

Trabalho de Conclusão de Curso

USO DO AZUL DE TOLUIDINA SEGUIDO DA QUIMIOLUMINISCÊNCIA COMO MÉTODO AUXILIAR DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LESÕES BUCAIS CANCERIZÁVEIS

Mariáh Luz Lisboa



**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Odontologia**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

Mariáh Luz Lisboa

**USO DO AZUL DE TOLUIDINA SEGUIDO DA
QUIMIOLUMINISCÊNCIA COMO MÉTODO AUXILIAR DE
DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LESÕES BUCAIS
CANCERIZÁVEIS**

Trabalho apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para conclusão do Curso de Graduação em Odontologia.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Liliane J. Grando.

Florianópolis
2011

Catálogo na fonte elaborada pela biblioteca da
Universidade Federal de Santa Catarina



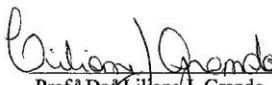
Mariáh Luz Lisboa

**USO DO AZUL DE TOLUIDINA SEGUIDO DA QUIMIOLUMINISCÊNCIA
COMO MÉTODO AUXILIAR DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LESÕES
BUCAIS CANCERIZÁVEIS**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Cirurgião-Dentista, e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia.


Florianópolis, 05 de outubro de 2011.

Banca Examinadora:



Prof.^a Dr.^a Lilliane J. Grando
Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Dr. Filipe Ivan Daniel
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.^a MSc. Carolina Amália Barcellos Silva
Universidade do Vale do Itajaí

Dedico este trabalho

*Aos meus pais, **Anna Carla**
e **Jofre**, por todo apoio, dedicação e
amor incondicional que sempre
proporcionaram a realização dos
meus sonhos.*

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

Agradeço à **Universidade Federal de Santa Catarina** pelos conhecimentos adquiridos para a vida e para a jornada profissional.

À direção do **Hospital Universitário** por permitir a realização deste trabalho.

Ao **Ambulatório de Estomatologia do Núcleo de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial e Patologia Bucal** do Hospital Universitário por proporcionar a realização deste trabalho.

Ao **Laboratório de Patologia Bucal** da UFSC, local onde foram processados os laudos deste estudo.

À *Sección de Patología Médica Bucofacial y Clínica Integrada de Pacientes Especiales* da **Universidade Européia de Madri (Espanha)** na contribuição de parte da amostra e pela doação dos kites de Quimioluminiscência.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço à minha família, em especial a meus pais **Anna Carla e Jofre** e a meu irmão **Guilherme**, por todo apoio nos momentos mais difíceis.

Aos meus avós: **Arly e Renilda, Telmo e Rosa**, pelo apoio incondicional. Obrigada por acreditarem nos meus sonhos.

Ao avô **Telmo** por tantas vezes ter ido me buscar na UFSC nos momentos de maior estresse e por ter me proporcionado um recanto tranquilo em sua casa. À avó **Rosa** por sempre me esperar com comidinhas gostosas, carinho e compreensão.

À **Prof.^a Dr.^a Liliane J. Grando** agradeço simplesmente por tudo! Pela dedicação de todas as horas, compreensão, excelente orientação e, principalmente, por acreditar em mim. Muito obrigada, você estará sempre no meu coração!

À **Prof.^a MSc Sônia Maria Lückmann Fabro** por ter apostado em mim desde o início do curso e por ter me proporcionado momentos de muita felicidade, além de crescimento pessoal e profissional, com as “nossas crianças” e pelo ingresso no Ambulatório de Estomatologia do HU/UFSC, local onde encontrei profissionais maravilhosos.

À **Prof.^a Dr.^a Maria Luisa Somacarrera Peres** da Universidade Européia de Madri, pelo apoio ao trabalho, por ter contribuído com parte da amostra e pela doação dos kites de Quimioluminescência utilizados neste trabalho.

À equipe de professores do Ambulatório de Estomatologia, **Prof.^a MSc Sônia Maria Lückmann Fabro, Prof.^a Dr.^a Liliane J. Grando, Prof.^a Dr.^a Maria Inês Meurer, Prof. Dr. Filipe Modolo, Prof.^a Dr.^a Elena Riet Correa Rivero, Prof. Dr. Filipe Ivan Daniel e Prof.^a Dr.^a Aira Bonfim** por todo apoio e dedicação com o meu trabalho.

À equipe do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC e seus responsáveis **Prof. Dr. Filipe Modolo e Prof.^a Dr.^a Elena Riet Correa Rivero** pelo processamento dos laudos e por todo apoio com o conteúdo referente à histopatologia do trabalho.

Aos mestrandos em Diagnóstico Bucal **Sarah Freygang Mendes, Grasieli de Oliveira Ramos e Gonçalo Pereira Martins Jr.** por terem abraçado o projeto com tanto carinho.

À **Sarah Freygang Mendes** por toda ajuda e explicações quanto à histopatologia deste estudo e por tudo que aprendi com você no Ambulatório de Estomatologia.

À **Grasieli de Oliveira Ramos** pelo apoio de sempre com as lâminas, com as “tecnologias” e por todo carinho e dedicação.

Aos profissionais voluntários do Ambulatório de Estomatologia do HU/UFSC e às residentes da Residência Multiprofissional do HU/UFSC pela dedicação e ajuda com meu trabalho. Obrigada por todos os conhecimentos adquiridos por meio do exemplo, experiência e sabedoria de vocês.

A todos os professores do Curso de Graduação em Odontologia, obrigada pelo trabalho e dedicação que resultam na excelência deste curso.

Ao **Guilherme Garcia Cunha**, amor de longa data, obrigada por todo amor, carinho, companheirismo e compreensão nos momentos mais difíceis.

Às minhas amigas do coração, colegas de curso, **Bruna Casagrande Cechella, Larissa Fernanda Pottmaier, Luciana Salvato e Luciana da Silva**, pela amizade e companheirismo de sempre. Vocês estarão sempre em meu coração!

À “dupla” **Bruna Casagrande Cechella**, amiga de todas as horas. Obrigada por toda amizade, paciência, compreensão, dedicação e auxílio. Vou sentir muito a sua falta!

Aos amigos **Luciana Salvato e Bruno Zunino** pelo companheirismo e amizade de todos os finais de semana. Vocês são verdadeiros amigos, aqueles que queremos ter para a vida inteira.

Obrigada.

A marca de sua ignorância é a profundidade de sua crença na injustiça e na tragédia. O que a lagarta chama de fim de mundo o mestre chama de borboleta.

Richard Bach

RESUMO

O diagnóstico precoce do câncer de boca é fundamental para elevar as taxas de sobrevivência dos pacientes, no entanto, a maioria destas lesões continua sendo diagnosticada nos estágios tardios da doença. Evidências demonstram que o desenvolvimento do câncer bucal está associado ao aparecimento de lesões bucais com potencial de transformação carcinomatosa, conhecidas como lesões cancerizáveis. Deste modo, o desenvolvimento de técnicas que facilitem o diagnóstico clínico adequado destas condições merece destaque. Enfatiza-se a técnica da aplicação do Azul de Toluidina (AT) seguido da Quimioluminescência (QL), que destaca características de lesões bucais suspeitas de malignidade, facilitando o diagnóstico e monitoramento, além de ajuda na seleção do melhor sítio para biópsia. A amostra foi composta por 50 pacientes adultos portadores de lesões bucais brancas, nos quais se aplicou a técnica em estudo. A área mais corada pelo AT foi biopsiada e os resultados histopatológicos foram comparados aos diagnósticos clínicos. Os resultados mostraram que 95,8% dos resultados histopatológicos foram compatíveis com os clínicos. As áreas mais coradas pelo AT foram as que apresentaram maior grau de displasia epitelial, portanto, maior risco de transformação maligna, o que faz do AT um importante método auxiliar na detecção de lesões suspeitas de malignidade e na seleção de sítios para biópsia. Já o dispositivo de QL melhorou a visualização dos bordos de algumas lesões, mas não acrescentou dados clínicos significativos ao diagnóstico, segundo critérios observacionais.

Palavras-chave: Câncer de boca, lesões cancerizáveis, Azul de Toluidina, Quimioluminescência.

ABSTRACT

Early detection of oral cancer is crucial for increase the survival rates of patients. However, most cancers are still diagnosed at later stages of disease. Evidence shows that the development of oral cancer is associated with the appearance of lesions with malignant potential, called oral premalignant lesions. So, the development of techniques that could facilitate diagnosis of these conditions is important. We emphasize the technique that uses the application of Toluidine Blue (TB) followed by Chemiluminescence (CL), which highlights features of oral lesions suspicious of malignancy facilitating their diagnosis and monitoring. Moreover this technique facilitates the site of biopsy selection. The TB followed by CL was applied in 50 patients with white oral premalignant lesions. The areas stained by TB areas were biopsied and the histopathologic results were compared with clinical diagnoses. The results showed that 95,8% of the histopathological findings were compatible to clinical diagnoses. The most retention of TB areas showed the greatest degree of epithelial dysplasia, therefore increased risk of malignant transformation. It makes the TB an important auxiliary method for the detection of lesions suspicious for malignancy and for the best sites for biopsy selection. The CL helped to identify the correct limits of some lesions; but it didn't add significant diagnostics data according to observational criteria.

Keywords: Oral cancer, precancerous conditions, Toluidine Blue, Chemiluminescence.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Aplicação da técnica em estudo em paciente da amostra..... 79
- Figura 2** – Seleção do sítio de biópsia segundo a área de maior retenção do Azul de Toluidina..... 81
- Figura 3** - Aplicação da técnica em lesões com diagnóstico clínico de Líquen Plano Bucal..... 83

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - O sistema TNM de acordo com a classificação de NEVILLE *et al* (2004)..... 49

Quadro 2 - Taxa de sobrevida do paciente, de acordo com o estadiamento clínico para o CEC bucal segundo NEVILLE *et al* (2004)..... 50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição da população estudada segundo os grupos de estudo, distribuição por faixa etária e gênero. Florianópolis, SC, 2011..... 73

Tabela 2 - Diagnóstico clínico das lesões estudadas e correspondência das mesmas com os respectivos exames histopatológicos. Florianópolis, SC, 2011..... 75

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Lesões estudadas distribuídas de acordo com o diagnóstico clínico e grupo pertencente. Florianópolis, SC, 2011.....	77
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEC – Carcinoma de Células Escamosas ou Carcinoma Espinocelular

AT – Azul de Toluidina

QL – Quimioluminiscência

LPB – Líquen Plano Bucal

CE – Citologia Esfoliativa

OMS – Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA.....	33
1.1 CARCINOGENESE.....	33
1.2 Lesões bucais cancerizáveis.....	38
1.2.1 Leucoplasia.....	40
1.2.2 Leucoplasia associada ao tabaco sem fumaça.	41
1.2.3 Eritroplasia.....	42
1.2.4 Queilite actínica.....	42
1.2.5 Estomatite nicotínica.....	43
1.2.6 Transformação carcinomatosa do líquen plano bucal.....	43
1.3 CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS.....	44
1.3.1 Características clínicas.....	44
1.3.1 Carcinoma de lábios.....	45
1.3.2 Carcinoma intraoral.....	46
1.3.2 Característica histopatológicas.....	47
1.3.3 Estadiamento, tratamento e prognóstico.....	48
1.4 MÉTODOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO	
PRECOCE.....	50
1.4.1 Corante azul de toluidina.....	51
1.4.2 Reação de quimioluminiscência.....	54
1.4.3 Outras técnicas auxiliares de diagnóstico.....	57
1.4.3.1 Biópsia e exame histopatológico.....	57
1.4.3.2 Citologia esfoliativa.....	57
1.4.3.3 Solução de iodo lugol.....	58
1.4.3.4 Técnicas de emissão de luz.....	58
2. ARTIGO.....	63
REFERÊNCIAS.....	87
APÊNDICES	
A. Banco de dados.....	95
B. Ficha clínica do paciente.....	101
C. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	106
ANEXO	
A. Certificado de aprovação de projeto de pesquisa emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.....	113
B. Normas utilizadas na formatação do artigo.....	114

Contextualização do Problema

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA

1.1 CARCINOGENESE

A atividade normal celular está na dependência da integração perfeita entre suas vias metabólicas. O câncer, na sua maioria, surge por mutação ou ativação anormal dos genes que controlam o crescimento de uma célula, o que resulta em modificações na sua biologia, com alteração na proliferação, diferenciação e interação celular (SILVA *et al.*, 2004). Desta forma, a capacidade de desenvolver o câncer é uma característica de toda e qualquer célula com competência para reprodução e crescimento (SILVERMAN, 2004).

A carcinogênese ocorre por mutações genéticas hereditárias ou adquiridas por ação de agentes ambientais, químicos, hormonais, radioativos ou virais; os quais são chamados de carcinógenos. Por meio da exposição à associação destes agentes, podem ocorrer alterações na duplicação do material genético celular onde, ao final deste processo, há autonomia da célula para proliferar, replicando cópias atípicas (SILVA, *et al.*, 2004).

A urbanização, industrialização e a maior expectativa de vida da população são fatores que contribuem para o aumento das doenças crônico-degenerativas, entre elas o câncer. O aumento no consumo de tabaco e bebidas alcoólicas é considerado fundamental para o aumento da incidência das neoplasias malignas em geral (SILVERMAN, 2004). No Brasil, o câncer está entre as três causas de morte mais comuns (RAMOS, 2007).

A morbidade e a mortalidade de certos tumores como os de mama, próstata e colo de útero têm reduzido nos últimos anos, o mesmo não ocorre com o câncer bucal (FARAH *et al.*, 2006). As neoplasias bucais representam o sexto tipo de malignidade mais frequente em todo o mundo. Cerca de 50% dos indivíduos diagnosticados com o câncer de boca morrem em um período de até cinco anos. Contudo, quando descobertas precocemente, até 80% das neoplasias malignas bucais podem ser tratadas e curadas. Isto denota a importância do diagnóstico precoce e do desenvolvimento de técnicas que facilitem o mesmo (ESTHER *et al.*, 2007; HUBER *et al.*, 2004).

Os tumores malignos de origem epitelial são os que acometem com maior frequência a cavidade bucal. Dentre esses, o Carcinoma de Células Escamosas (CEC), também conhecido como Carcinoma Epidermóide, é responsável por mais de 90% dos tumores malignos bucais (ESTHER *et al.*, 2007; FARAH *et al.*, 2006).

A etiologia do câncer de boca é multifatorial, onde a exposição em longo prazo a agentes carcinogênicos, como alterações no sistema de controle imunológico e uso crônico de tabaco, bem como modificações no metabolismo celular e angiogênese, são tidos como os principais fatores desencadeantes desta neoplasia maligna (RHODUS, 2009). A associação entre o tabagismo e o câncer de boca é consolidada por meio de estudos epidemiológicos que revelam que há duas vezes mais fumantes diagnosticados com o câncer de boca quando comparados com a população de controle (RHODUS, 2009; SILVERMAN, 2003).

De acordo com REGEZI *et al* (2008):

Acredita-se que de todos os fatores que contribuem para a etiologia do câncer, o tabaco seja o mais importante. Todas as formas de tabagismo estão fortemente ligadas à causa de câncer bucal. O charuto e o cachimbo ainda estão associados a um risco maior de desenvolvimento de câncer bucal do que o cigarro. O “fumo invertido”, hábito de colocar a ponta acesa do cigarro voltada para dentro da boca, que é um costume na Índia e em alguns países sul-americanos, está associado a um risco significativamente alto de câncer bucal.

As variáveis tempo e dose dos agentes carcinógenos contidos no tabaco são de extrema importância na determinação do risco de desenvolvimento do câncer bucal (SILVERMAN, 2004; REGEZI *et al*, 2008). Ainda, é provável que o uso crônico do tabaco sem fumaça, o qual elimina a combustão do cigarro, na configuração de rapé (tabaco na forma triturada ou em pó) ou de tabaco para mascar (hábito em que as folhas do tabaco são mascadas), também represente risco mais elevado de câncer em comparação ao indivíduo não fumante; porque este hábito promove risco mais baixo em relação ao tabagismo com fumaça (NEVILLE *et al*, 2004; REGEZI *et al*, 2008).

Alguns autores afirmam que o álcool não representa um agente carcinogênico por si mesmo, elevando o risco à malignização somente quando combinado ao tabagismo. (WARNAKULASURIYA *et al*, 2008; REGEZI *et al*, 2008) Outros autores defendem que o etilismo crônico isolado pode sim ser considerado um fator de risco importante, baseados na capacidade que o álcool possui de irritar a mucosa oral e de agir como solvente para outros carcinógenos. Ainda, os contaminantes e aditivos encontrados nas bebidas etílicas podem contribuir para o

surgimento de neoplasias. Os riscos atribuídos ao tabagismo e ao consumo de álcool juntos têm sido estimados para 80% no sexo masculino e 61% no sexo feminino (RHODUS, 2009; SILVERMAN, REGEZI).

A literatura sugere que microrganismos também representem risco ao desenvolvimento do câncer de boca. A *Candida albicans* pode ser destacada devido a sua capacidade em produzir o N-nitrosobenzilmetilamina, um agente carcinogênico (REGEZI *et al*, 2008).

A origem viral da carcinogênese, como pode ocorrer na infecção pelo HIV(aumento do risco a Linfomas), HHV-8 (relacionado ao Sarcoma de Kaposi), EBV (relacionado ao Linfoma de Burkitt), HPV 16 e 18 (relacionado ao Carcinoma Verrucoso), também é descrita (RHODUS, 2009; NAIHMASUR, 2009). Estima-se que aproximadamente 20% dos cânceres humanos têm relação com algum tipo de vírus, denominados vírus oncogênicos (BOGLIOLO *et al*, 2004).

Segundo REGEZI *et al* (2008):

Acredita-se que o mecanismo pelo qual o (Vírus do Papiloma Humano) HPV contribui para a carcinogênese seja através da inibição de uma proteína (E6) do p53, que leva à aceleração do ciclo celular e compromete o reparo do DNA.

Além da E6, a proteína E7 também é descrita na carcinogênese pelo vírus HPV. A E7 é capaz de ligar-se à pRb (Proteína do Retinoblastoma), inibindo a mesma, a qual regula a transição de fase G1 para S do ciclo celular (OLIVEIRA *et al*, 2003; LEE *et al*, 1998).

Alguns estudos ainda indicam a associação de fatores dietéticos com as neoplasias malignas em geral, como hábitos alimentares deficientes em anti-oxidantes e ferro, sendo que o último relaciona-se com a síndrome de Plummer-Vinson (também denominada de Síndrome de Patterson-Kelly) onde é relatado predisposição ao desenvolvimento do CEC (REGEZI *et al*, 2008; RHODUS, 2009; NAIHMASUR, 2009).

Destaca-se também a exposição crônica ao sol para os carcinomas extra-orais (como os carcinomas de lábio), doenças auto-imunes e lesões traumáticas crônicas (RHODUS, 2009; NAIHMASUR, 2009). Embora o trauma crônico seja considerado pela maioria dos autores mais um fator modificador do que iniciador do câncer de boca, ele poderia acelerar o processo de malignização já iniciado por outras condições. Desta forma, próteses mal adaptadas, restaurações com bordos cortantes e outros fatores de fricção dificilmente culminarão em

lesões malignas (SUGIMURA *et al*, 2006; KANOJIA & VAIDYA, 2005; REGEZI *et al*, 2008). No entanto, estes fatores traumáticos devem ser removidos para evitar que se superponham a demais fatores carcinogênicos como o tabagismo e etilismo, aumentando as chances da carcinogênese ser desencadeada (REGEZI *et al*, 2008).

Os agentes carcinogênicos descritos combinados com a hereditariedade podem levar a alterações genéticas, principalmente nos genes responsáveis por proteínas que controlam o ciclo celular, bem como a sobrevivência e a mobilidade da célula, além da angiogênese; e assim, dar origem a uma neoplasia. Estas mutações genéticas culminam em vantagem de crescimento a estas células, o que permite a reprodução das unidades geneticamente alteradas, as quais possuem potencial maligno aumentado. Este processo de reprodução de cópias mutantes pode ser denominado de evolução clonal (SUGIMURA *et al*, 2006; REGEZI *et al*, 2008).

Este evento é consequência da ativação exacerbada de protocongenes (que após ativação indevida são denominados oncogenes) que regulam de forma positiva a reprodução e mobilidade celular, além de sinalizar para a angiogênese; e da inibição de genes supressores de tumor (ou antioncogenes), os quais regulam de forma negativa a proliferação celular. Deste modo, quando há uma superativação dos genes que favorecem crescimento e supressão daqueles que o limitam, há a reprodução exacerbada de células com material genético defeituoso (REGEZI *et al*, 2008).

A perda do controle a proliferação se expressa na fase G1 da multiplicação celular, a qual é dividida em G1, S, G2 e então mitose. As principais alterações ocorrem na fase G1 e, se não reparadas, são transmitidas às fases subsequentes. O gene p53 constitui um dos supressores de tumor que impedem a passagem do DNA mutante de G1 para S. Em aproximadamente metade dos carcinomas, o p53 está alterado, produzindo proteínas ineficientes. Este gene pode já apresentar-se de modo desregulado em lesões cancerizáveis. As Ciclinas e as Quinases dependentes de Ciclina também constituem importantes proteínas de regulação do ciclo celular, as quais se encontram suprimidas no câncer de boca. Além da reprodução exacerbada, a apoptose (a morte celular programada) está deficiente (SUGIMURA *et al*, 2006; KANOJIA & VAIDYA, 2005; REGEZI *et al*, 2008).

É sabido que o câncer bucal progride através de dois estágios biológicos fundamentais. O primeiro refere-se à perda do controle ao ciclo celular, o qual resulta em reprodução exacerbada e apoptose suprimida. O segundo evento relaciona-se a mobilidade celular elevada,

que favorece o desenvolvimento de lesões invasivas e de metástase, já que as células epiteliais neoplásicas invadem a membrana basal, alcançando, deste modo, os tecidos subjacentes e posteriormente a cadeia de linfonodos (REGEZI *et al*, 2008).

As neoplasias malignas progridem por meio de um processo de sucessivas alterações na reprodução celular, o que resulta em mudanças perceptíveis clinicamente. O processo geralmente inicia com hiperplasia epitelial, passando por displasia, desenvolvimento das lesões cancerizáveis, e finalmente culmina no tumor (KANOJIA & VAIDYA, 2005).

Os carcinomas invasivos evoluem a partir de uma lesão cancerizável ou de um carcinoma *in situ* mais raramente, surgem sem evidências clínicas ou microscópicas de uma lesão prévia. Os carcinomas invasivos possuem pior prognóstico devido à alta capacidade que suas células têm de adentrar na membrana basal e no tecido conjuntivo, incluindo o sistema vascular, favorecendo, deste modo, a metástase posterior das células tumorais. Provavelmente, a característica invasiva destas unidades deve-se por lesões moleculares nos genes, proteínas relacionadas ao movimento celular e à degradação da matriz extracelular. Isto promove alterações fenotípicas das moléculas de adesão celular, como as Caderinas e Integrinas, o que resulta em liberação das células e capacidade de migração. Tal fato associado à degradação enzimática da membrana basal e do tecido conjuntivo, constituem os componentes necessários para a invasão e proliferação tumoral (SUGIMURA *et al*, 2006; KANOJIA & VAIDYA, 2005; REGEZI *et al*, 2008; NEVILLE, 2004).

Para o desenvolvimento e crescimento de aproximadamente 1 mm de tumor, é necessário que surjam novos vasos sanguíneos, a fim de nutrir a área em expansão, assim, para haver aumento do tumor é imperativo a angiogênese. A mesma ocorre por indução mediada pela neoplasia ou super-expressão das proteínas angiogênicas (como o fator de crescimento endotelial vascular – VEGF), do fator de crescimento fibroblástico básico (FGF) e/ou supressão das proteínas inibidoras da angiogênese. O VEGF e o FGF já foram identificados em cânceres de cabeça e pescoço (REGEZI *et al*, 2008).

Além de maior multiplicação, mobilidade e indução à angiogênese, as células neoplásicas ainda possuem período de vida replicativo aumentado, o qual é regulado através dos telômeros, complexos de proteínas localizados nas extremidades dos cromossomos importantes para a estabilidade dos mesmos. O período de vida replicativo das células normais é limitado devido ao encurtamento dos

telômeros, que ocorre a cada ciclo de reprodução celular. Quando este complexo atinge uma redução crítica os cromossomos e, consequentemente, as células são destinadas a degradação. Por sua vez, as unidades neoplásicas frequentemente desenvolvem mecanismos que mantêm o comprimento dos telômeros e a integridade cromossômica, desta forma, estas células possuem tempo de vida útil para a duplicação aumentado. Essa habilidade pode estar relacionada com a ativação da telomerase, uma enzima intranuclear encontrada nas células tumorais, mas não nas unidades normais (SUGIMURA *et al*, 2006; KANOJIA & VAIDYA, 2005; REGEZI *et al*, 2008; NEVILLE, 2004).

1.2 Lesões Bucais Cancerizáveis

O diagnóstico precoce de lesões bucais cancerizáveis ou do câncer de boca propriamente dito tem importante influência sobre os resultados da terapêutica, já que o estágio do tumor dita um prognóstico com maior ou menor sobrevivência ou com a cura da doença. Aproximadamente dois terços dos diagnósticos de CEC são realizados tardiamente, quando o tumor já se apresenta em estágio III ou IV da classificação TNM. (EPSTEIN *et al*, 2007)

O Carcinoma Espinocelular permanece como uma doença letal na maioria dos indivíduos diagnosticados tardiamente, apesar dos avanços no diagnóstico e abordagem terapêutica multidisciplinar, tornando-se ainda mais preocupante devido ao aumento de sua incidência em pacientes jovens (THOMSON *et al*, 2008). No entanto, para maior taxa de sucesso no tratamento do CEC é de suma importância a sua detecção precoce, ou idealmente, torna-se essencial o diagnóstico de lesões ainda não malignas, mas passíveis de cancerização. Isto se justifica já que muitos cânceres passam por fases perceptíveis clinicamente por meio de alterações morfológicas da mucosa bucal (PITIYAGE *et al*, 2009; THOMSON *et al*, 2008).

Tais modificações fenotípicas geralmente apresentam-se microscopicamente como displasia epitelial, com variada presença de atipia celular e desorganização tecidual; fatores que representam risco aumentado para malignização (THOMSON *et al*, 2008). Esta expressão alterada da morfologia com atipia celular evidenciada ao exame histopatológico demonstra potencial de transformação maligna da lesão (lesão pré-maligna) (PITIYAGE *et al*, 2009).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) o conceito que classifica uma lesão em cancerizável baseia-se em quatro principais fatores (WARNAKULASURIYA *et al*, 2007):

1. Estudos longitudinais acompanharam áreas do tecido bucal com alterações na sua aparência clínica, as quais foram denominadas de condições cancerizáveis, pois ao longo do estudo uma parcela destas alterações sofreu transformação maligna.
2. Alterações leucoplásica e eritroplásicas estão presentes nas margens de alguns carcinomas.
3. Uma parcela das lesões cancerizáveis conserva alterações histológicas muito semelhantes às encontradas em um carcinoma *in situ*.
4. Alguns cromossomos e alterações moleculares que são observados em carcinomas invasivos estão presentes nas lesões cancerizáveis.

A displasia pode ser definida como uma condição adquirida caracterizada por alterações do crescimento e da diferenciação celular. As displasias mais conhecidas são as epiteliais, que podem apresentar aumento do crescimento celular, distúrbios da maturação celular e atipia arquitetural. Além das alterações fenotípicas, as unidades displásicas podem apresentar modificações significativas no seu material genético (BOGLIOLO *et al*, 2004).

As displasias epiteliais podem ser classificadas em graus **leve**, **moderado** e **intenso** de acordo com o comprometimento das camadas celulares do epitélio estratificado. Quanto mais próximas as atipias estiverem das camadas mais superficiais, mais intensa é uma displasia (BOGLIOLO *et al*, 2004). O termo displasia epitelial é atribuído às alterações histopatológicas associadas ao risco de desenvolvimento de uma neoplasia maligna (REIBEL, 2003). A presença desta condição geralmente é tida como o mais importante fator predisponente à transformação maligna em uma lesão cancerizável. Contudo, deve-se ressaltar que a presença da displasia não é patognomônica para o desenvolvimento do câncer, o que as lesões que a apresentam possuem é o risco mais elevado de transformação maligna em comparação com os sítios ausentes de displasia (REIBEL, 2003).

O comportamento individual exato das lesões cancerizáveis, ou seja, se elas realmente sofrerão transformação e o momento em que isto poderá ocorrer são imprevisíveis; sabe-se que quanto maior o grau de displasia epitelial, maior é o risco de malignização. A taxa de transformação maligna das lesões cancerizáveis de 6 a 36% (THOMSON *et al*, 2008).

Desta forma, incluem a prevenção do câncer de boca, além do abandono ao tabaco e ao álcool, o exame físico minucioso para verificar a existência de lesões em estágios iniciais de CEC ou de lesões cancerizáveis, juntamente com a utilização do corante Azul de Toluidina, de citologia esfoliativa e biópsia (FARAH *et al*, 2008; SILVERMAN, 2004). Os sinais clínicos mais evidentes desta condição são alterações de cor, de regularidade e da textura. Ainda deve-se observar se o local da lesão encontra-se entre aqueles em que as neoplasias ocorrem com maior prevalência (EPSTEIN *et al*, 2008; RHODUS, 2009).

As principais lesões cancerizáveis são:

1.2.1 Leucoplasia

Termo denominado às lesões em forma de placa branca da mucosa bucal, as quais não são removíveis à raspagem e que não podem ser caracterizadas clínica ou patologicamente como outra enfermidade. Exclui líquen plano, algumas formas de candidíase, leucoedema, hiperkeratose friccional por trauma, nevo branco esponjoso e outras lesões brancas. É importante ressaltar que este é um termo clínico, não fazendo qualquer menção ao aspecto histopatológico (RODRIGUES, *et al*. 2000). A cor clínica branca é consequência da camada de ceratina superficial ou da camada espinhosa do epitélio, ambas espessadas, que podem mascarar a vascularização do tecido, conferindo cor mais esbranquiçada a mucosa (NEVILLE *et al*, 2004).

A leucoplasia constitui a lesão cancerizável mais freqüente da cavidade oral em pacientes fumantes, podendo desenvolver-se em qualquer sítio. Entretanto, o assoalho bucal e a língua representam os locais onde os índices de transformação maligna são mais altos (SILVERMAN, 2004). Apesar de fortemente associada ao tabagismo e etilismo, a leucoplasia pode ser idiopática e ocorre principalmente em homens de meia idade (RODRIGUES *et al*, 2000).

As lesões individuais podem ter aparência clínica variada e tendem a alterar-se com o tempo. As leucoplasias iniciais e brandas clinicamente mostram placas branco-acinzentadas, levemente elevadas, as quais podem parecer translúcidas, fissuradas ou enrugadas, constituindo placas moles e planas. Em geral, as lesões iniciais são bem delimitadas, todavia podem misturar-se gradualmente com a mucosa normal. Este tipo de leucoplasia em geral não apresenta displasia ao exame histopatológico, apresentando apenas hiperplasia por acantose e

hiperceratose (NEVILLE *et al*, 2004; RAGAVENDRA *et al*, 2010; REICHART, 2001).

Principalmente em tabagistas crônicos cerca de dois terços das lesões brandas estendem-se lentamente para os lados, além de tornarem-se mais espessas e brancas. Neste estágio a placa pode ser denominada de leucoplasia espessa. Fissuras na superfície da lesão podem surgir e aprofundar-se com o tempo, denominando a placa de leucoplasia nodular ou granular. Algumas ainda podem apresentar projeções de ceratina, ocasião em que são denominadas de leucoplasia verrucosa (NEVILLE *et al*, 2004; RAGAVENDRA *et al*, 2010; REICHART, 2001). Há ainda a leucoplasia verrucosa proliferativa, a qual é tida na literatura como de risco elevado à transformação maligna, sugerindo associação à presença de infecção viral por HPV (Vírus do Papiloma Humano). A mesma caracteriza-se pelo desenvolvimento de diversas placas ceratóticas com projeções rugosas na superfície. As leucoplasias podem tornar-se displásicas e até mesmo invasivas, sem que hajam alterações clínicas (NEVILLE *et al*, 2004).

A biópsia para exame histopatológico do tecido é mandatória. Cerca de 5% das leucoplasias já apresentam transformação maligna na primeira biópsia (SILVERMAN, 2004; RHODUS, 2009).

A excisão cirúrgica da lesão constitui a principal forma de tratamento. Em lesões com displasia moderada a intensa é fundamental o acompanhamento clínico pós-cirúrgico de longa duração, já que recorrências são relativamente frequentes se os fatores causadores persistirem atuando (NEVILLE *et al*, 2004).

1.2.2 Leucoplasia associada ao tabaco sem fumaça

Posto que seja utilizado em diversos países por razões culturais, o uso do tabaco sem fumaça ou rapé é crescente, principalmente devido à pressão social e da mídia ao abandono do tabagismo, com a idéia de ser menos prejudicial à saúde. Entretanto, a deposição deste tipo de tabaco sobre a mucosa oral, em região de fundo de sulco vestibular inferior, está associada ao desenvolvimento de lesão branca imediatamente abaixo do local onde o tabaco é depositado (SILVERMAN, 2004).

O aparecimento da lesão é associado à duração do hábito e ao tipo de tabaco utilizado. A placa característica é delgada, branco-acinzentada, quase translúcido, com bordos que podem misturar-se ao tecido normal gradualmente. A mucosa também pode apresentar-se mais aveludada a palpação e seu estiramento frequentemente revela uma bolsa característica devido a flacidez do tecido (NEVILLE *et al*, 2004).

Geralmente a descoberta da lesão é acidental, evidenciando a importância de um exame físico minucioso, onde a mucosa possui aspecto corrugado, pregueado, indolor e assintomático (REGEZI *et al*, 2008; RODRIGUES *et al*, 2000).

1.2.3 Eritroplasia

Termo que descreve placa vermelha em mucosa oral, que não pode ser diagnosticada clínica ou patologicamente como de trauma ou inflamação. A cor característica provém de repetidos processos angiogênese precoces na região (RHODUS, 2009). Pode estar associada a uma leucoplasia adjacente, ocasião onde é denominada de eritroleucoplasia (NEVILLE *et al*, 2004).

Ainda que menos frequente quando comparada a leucoplasia, a eritroplasia é descrita como de maior potencial à transformação maligna. Histologicamente, cerca de 50% destas lesões já representam um carcinoma invasivo, 40% carcinoma *in situ* e apenas 9% displasia epitelial moderada. O tratamento de escolha consiste na remoção cirúrgica e rigoroso acompanhamento clínico (FARAH *et al*, 2008).

1.2.4 Queilite Actínica

É também denominada de queilite ou queilose solar e caracteriza-se por acelerada degeneração tecidual, principalmente em semi-mucosa de lábio inferior, como resultado de exposição crônica ao sol, sem proteção solar adequada. Possui maior prevalência em indivíduos de pele clara do sexo masculino (REGEZI *et al*, 2008).

Os sinais clínicos da queilite actínica correspondem a semi-mucosa labial atrófica, esbranquiçada, com fissuras ou pregas em ângulos retos com a porção mucocutânea. Esta junção pode-se tornar irregular, com limites apagados e consistência fibrosa à palpação bidigital. É frequente a descamação superficial do epitélio, rachaduras, erosão, úlceras e formação de crostas. Histologicamente observa-se epitélio pavimentoso estratificado atrófico, com hiperqueratose. O tecido conjuntivo subjacente apresenta-se com alteração basofílica (FARAH *et al*, 2008; REGESI *et al*, 2008).

Na presença da queilite actínica deve-se instituir os filtros e bloqueadores solares com elevado fator de proteção, biopsiar as lesões de aspecto clínico suspeito, e optar por tratamento do local como a laserterapia, o uso tópico de ácido retinóico ou a remoção cirúrgica (REGEZI *et al*, 2008).

1.2.5 Estomatite Nicotínica

Esta lesão compreende a áreas de hiperqueratose na mucosa palatina associadas a alterações de caráter inflamatório nos ductos excretores de glândulas salivares menores (NEVILLE *et al*, 2004).

A mucosa palatina, especialmente a do palato duro adquire coloração esbranquiçada, porém composta de vários pontos vermelhos com distribuição simétrica. Está mais associada ao tabagismo de charuto e cachimbo. A combinação de carcinógenos do tabaco e o calor são intensificados no fumo invertido, onde a parte acesa do cigarro fica posicionada para dentro da boca, hábito cultural em alguns países asiáticos (REGEZI *et al*, 2008).

1.2.6 Transformação carcinomatosa do Líquen Plano Bucal

O Líquen Plano Bucal (LPB) consiste em uma doença dermatológica que frequentemente afeta as mucosas principalmente a bucal, sendo que as manifestações bucais, em grande parte dos casos, precedem as dermatológicas (MARCUCCI *et al*, 2005; NEVILLE *et al*, 2004).

A etiologia do LPB não está totalmente elucidada. Atualmente esta doença é considerada auto-imune devido à presença de depósito de imunoglobulinas ao nível da junção dermo-epidérmica em 95% dos casos (MARCUCCI *et al*, 2005).

De acordo com MARCUCCI *et al* (2005):

Em grande número de casos está associado à ansiedade e depressão como fatores de risco ao Líquen Plano Bucal influenciando no seu desenvolvimento. Ocorre em indivíduos de ambos os sexos, com predominância na mulher, em geral acima dos 40 anos de idade.

O LPB ocorre principalmente na mucosa jugal, de modo bilateral, nos bordos laterais e dorso de língua e na semi-mucosa labial (MARCUCCI *et al*, 2005; NEVILLE *et al*, 2004). Essencialmente existem duas formas de manifestações bucais do LPB, a forma reticular e a erosiva (NEVILLE *et al*, 2004). O Líquen Plano Reticular é mais comum em relação à forma erosiva e geralmente não promove sintomatologia dolorosa. Seu padrão característico apresenta linhas brancas que se entrelaçam, denominadas estrias de Wickham, entretanto pode também apresentar-se sob a forma de pápulas brancas. Em geral as

lesões não são estáticas, melhorando ou piorando em semanas ou até meses (NEVILLE *et al*, 2004).

O Líquen Plano Erosivo mostra regiões eritematosas atróficas com graus variáveis de ulceração central. A periferia das regiões atróficas geralmente é circundada por estrias brancas irradiadas. Esta forma de LPB é tida como de maior significância devido à sintomatologia dolorosa associada (NEVILLE *et al*, 2004). O diagnóstico de LPB é dado com base nas características clínicas, histopatológicas e no exame de imunofluorescência direta (MARCUCCI *et al*, 2005).

Distinguem-se duas alterações semelhantes ao Líquen Plano Bucal na sua aparência clínica e características histopatológicas (MARCUCCI *et al*, 2005):

1. **Reação Liquenóide:** provocada pela ação de medicamentos e resposta a presença de metais. Na cavidade bucal, as restaurações de amálgama estão associadas com a maioria das etiologias de reações liquenóides. Removida a etiologia, as lesões regredem.
2. **Displasia Liquenóide:** reação não específica do LPB, observada histologicamente, sendo considerada de difícil diagnóstico. Pode evoluir para neoplasias malignas.

Apesar da displasia liquenóide, a classificação do LPB como lesão potencialmente cancerizável é fato ainda de controvérsia na literatura. Estudos demonstram a transformação em cerca de 1 a 2% dos casos, sendo que alguns autores associam o fato a uma coincidência. Desta forma, como a malignização do LPB mantém-se contraditória é importante biopsiar as lesões e acompanhar periodicamente os pacientes (MARCUCCI *et al*, 2005).

1.3 CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS

1.3.1 Características clínicas

A faixa etária de maior prevalência para o CEC está entre os 50 e 70 anos, com predileção e média de idade menor para o sexo masculino. Estudos demonstram preocupação com a crescente ocorrência do câncer bucal em pacientes mais jovens (EPSTEIN *et al*, 2008; RHODUS, 2009). A língua, especialmente a porção látero-ventral do terço

posterior, representa o sítio anatômico mais frequentemente acometido (37% dos casos), seguida pelo lábio (22%), assoalho bucal (13%), mucosa jugal (6%), gengiva (6%) e palato (4%) (RHODUS, 2009).

As características clínicas do CEC podem variar de uma úlcera crateriforme a uma úlcera exofítica, de base endurecida, inicialmente assintomáticas, com meses de evolução. Podem apresentar bordos elevados e áreas de necrose central, representando a invasão tumoral dos tecidos adjacentes (FARAH *et al.*, 2006). Ainda, é possível a apresentação leucoplásica, eritroplásica e eritroleucoplásica do tumor nos seus estágios iniciais (NEVILLE *et al.*, 2004).

O padrão clássico é de uma úlcera crateriforme ou endofítica com uma área central ulcerada, irregular, com áreas de necrose tecidual, consistência endurecida (conhecida como “cartonada”) à palpação, circundada por bordos mais elevados e de coloração avermelhada ou branca. A lesão crateriforme do CEC possui diagnóstico diferencial com lesões granulomatosas (NEVILLE *et al.*, 2004).

Já a úlcera exofítica apresenta superfície irregular, de aspecto fungiforme, papilar ou verrucoso, de coloração branca ou avermelhada, dependendo da produção de ceratina e da vascularização provocada pelo tumor. A superfície mostra-se ulcerada e a lesão também tem consistência endurecida à palpação (FARAH *et al.*, 2006; NEVILLE *et al.*, 2004).

Quando ocorre envolvimento do tecido ósseo subjacente, o mesmo pode dar-se de forma dolorosa ou não. O aspecto radiográfico do envolvimento caracteriza-se por uma imagem radiolúcida, de limites mal definidos, com o aspecto agressivo conhecido como “roído de traças” (RHODUS, 2009; NEVILLE *et al.*, 2004).

1.3.1.1 Carcinoma de lábios

O CEC nos lábios é típico de indivíduos leucodermas, com histórico de exposição crônica à radiação ultravioleta solar ou, em menor frequência, de queimadura solar recente. A maioria dos acometidos são profissionais cujo trabalho é ao ar livre, tais como pescadores, agricultores, operários da construção civil (NEVILLE *et al.*, 2004). Cerca de 90% desta patologia ocorre na semi-mucosa labial inferior e a taxa de crescimento tumoral do CEC neste sítio é consideravelmente maior em relação ao lábio superior (REGEZI *et al.*, 2008).

O carcinoma de lábios caracteriza-se por uma úlcera endurecida, de base rígida e com formação de crosta, normalmente menor do que 1 cm em seu maior diâmetro na fase inicial da doença. Os pacientes

geralmente relatam o histórico de uma ferida crônica que não cicatriza. A invasão profunda do tumor ocorre em uma fase tardia da doença e a metástase para os linfonodos regionais submentonianos ou submandibulares é menos frequente; se houver invasão perineural, a neoplasia pode estender-se para a mandíbula via forame mentoniano (NEVILLE *et al*, 2004; REGEZI *et al*, 2008).

O prognóstico é geralmente favorável e a prevenção para este câncer dá-se principalmente por meio da proteção à exposição ao sol, com o uso de protetor solar labial com alto fator de proteção e chapéus de abas longas (REGEZI *et al*, 2008).

1.3.1.2 Carcinoma intraoral

A localização intra-oral de maior frequência para o CEC é constituída pela superfície látero-ventral do terço posterior da língua. Esta região desperta maior preocupação devido à progressão silenciosa em área de difícil visualização durante o exame clínico. O desenvolvimento de lesões no dorso ou na porção anterior é menos frequente (RHODUS, 2009; REGEZI *et al*, 2008).

O carcinoma da língua é caracteristicamente assintomático nos estágios iniciais. À medida que o tumor progride, com a invasão profunda, dor e disfagia são relatadas pelos pacientes. Dois terços desta patologia apresentam-se como úlceras endurecidas, assintomáticas, que não cicatrizam. Os demais são apresentadas clinicamente como leucoplasias, eritropias e eritroleucoplasias. O envolvimento de linfonodos no CEC de língua é relativamente comum e deve ser considerado no tratamento. Geralmente, os gânglios linfáticos atingidos homolaterais, sendo os linfonodos submandibulares os mais afetados (REGEZI *et al*, 2008; NEVILLE *et al*, 2004).

Depois dos CEC de língua, o CEC de assoalho bucal representa a localização intraoral de maior frequência, sendo típico de indivíduos com mais idade, tabagistas e etilistas crônicos. Clinicamente apresenta-se como úlcera exofítica, de bordos elevados e base endurecida. Dos cânceres intraorais, os que acometem o assoalho bucal têm maior possibilidade de desenvolver-se a partir de lesões com potencial de malignização. Ainda, esta região é a mais frequentemente associada às metástases no trato aerodigestivo ou em órgãos distantes (NEVILLE *et al*, 2004; RHODUS, 2009; REGEZI *et al*, 2008).

Os carcinomas gengivais e alveolares, em sua maioria, são assintomáticos e originários da mucosa ceratinizada em região mais posterior. Estes tumores podem ter aspecto semelhante às lesões

reacionais e inflamatórias locais (NEVILLE *et al*, 2004). As neoplasias malignas gengivais frequentemente destroem rapidamente o osso alveolar, causando aumento da mobilidade dental. Neste caso, o tumor pode tornar-se clinicamente evidente apenas após a extração do dente abalado, quando o tecido maligno prolifera através do alvéolo dental (NEVILLE *et al*, 2004).

O palato é o sítio menos acometido pelo CEC; no palato mole, e nos tecidos contíguos das fauces, o carcinoma de células escamosas é mais comum quando comparado ao acometimento do palato duro. Entretanto, os tumores palatinos são mais relatados em países do oriente onde o fumo invertido é mais frequente. O CEC de palato caracteriza-se por placas leucoplásicas e eritroplásicas ou por massas ulceradas e ceratóticas (REGEZI *et al*, 2008).

1.3.2 Características histopatológicas

O CEC origina-se através de proliferação no epitélio displásico de superfície, sendo caracterizado histopatologicamente por ilhas ou cordões invasivos de células epiteliais malignas, que constituem o **carcinoma invasivo**. Quando a característica de invasão não está presente, porém toda a espessura do epitélio, da camada basal à superfície da mucosa, mostra displasia diz-se que há um **carcinoma *in situ*** (NEVILLE *et al*, 2004).

A invasão constitui a extensão irregular do epitélio neoplásico para além da camada basal, atingindo o interior do tecido conjuntivo subjacente. Como resultado desse processo observa-se ilhas ou cordões celulares proliferando no tecido conjuntivo de forma independente do epitélio de superfície. As unidades invasoras ainda podem alcançar o tecido adiposo abrindo o caminho para músculos e ossos. A destruição de vasos sanguíneos ou linfáticos também pode ocorrer. Em resposta, frequentemente há intensa atividade inflamatória e imunológica em torno das ilhas de epitélio neoplásico maligno (NEVILLE *et al*, 2004).

As células tumorais caracterizam-se por apresentar alteração na relação núcleo-citoplasma, citoplasma eosinofílico, núcleos aumentados de tamanho e hiper cromáticos, pleomorfismo celular e nuclear, bem como produção exacerbada de ceratina originando hiper ceratose celular ou pérolas de ceratina (NEVILLE *et al*, 2004).

Histopatologicamente, o CEC apresenta três graduações histopatológicas baseadas no grau de diferenciação celular, os graus I, II e III. O grau histopatológico de um tumor está relacionado com as

características celulares e com o comportamento biológico do mesmo (NEVILLE *et al*, 2004).; RHODUS, 2009; REGEZI *et al*, 2008).

O *grau I* é um tumor diferenciado o suficiente para assemelhar-se com o tecido normal, sendo chamado de carcinoma bem diferenciado. Esta neoplasia parece crescer de modo mais lento e promover metástase mais tardiamente. Em contrapartida, um tumor onde se observa abundante pleomorfismo celular e nuclear em conjunto com ausência de produção de ceratina, onde se torna difícil a identificação do tecido original, tem-se um *grau III*, também descritos como tumor indiferenciado ou anaplásico. O *grau II* representa o grau intermediário entre a lesão bem diferenciada e a anaplasia. Quanto mais graduado é o CEC, mais rapidamente o tumor irá crescer e promover metástase (NEVILLE *et al*, 2004).

1.3.3 Estadiamento, tratamento e prognóstico

A disseminação metastática do carcinoma de células escamosas bucal ocorre principalmente por via linfática para os linfonodos homolaterais cervicais. O gânglio metastático apresenta-se endurecido, fixo, indolor e aumentado de tamanho à palpação. Os CECs de lábio inferior e de assoalho bucal tendem a disseminar para os nodos submentonianos e os tumores da região posterior da boca migram para a veia jugular superior e nodos digástricos (REGEZI *et al*, 2008; NEVILLE *et al*, 2004). Os locais onde mais frequentemente são diagnosticadas as metástases via hematogênica, à distância, são os pulmões, fígado e tecido ósseo. Quanto mais tardio for o diagnóstico do CEC, maiores são as chances do indivíduo apresentar a disseminação do mesmo (NEVILLE *et al*, 2004).

O tamanho do CEC e sua extensão metastática compreendem os melhores indicadores do prognóstico para o paciente, sendo importantes para a decisão cirúrgica do tratamento. A quantificação destes parâmetros clínicos é denominada de estadiamento (NEVILLE *et al*, 2004).

O estadiamento dos CECs segue a classificação TNM, sistema globalmente aceito para descrever a extensão anatômica de um tumor maligno, sendo utilizada para a maioria dos cânceres humanos (GREENE, 2008). A classificação TNM foi desenvolvida a partir da observação de que ambos prognóstico e modalidades de tratamento estão relacionados com a extensão da neoplasia. O T corresponde ao tamanho da lesão em seu sítio (estágio T), ou disseminar-se aos linfonodos regionais (estágio N), podendo chegar a metástase em sítios

distantes (estágio M), adquirindo pior prognóstico (Quadro 1). Quanto maior o estadiamento TNM, pior é o prognóstico ao portador da neoplasia (Quadro 2) (GREENE, 2008; NEVILLE *et al*, 2004).

Quadro 1. O sistema TNM de acordo com a classificação de NEVILLE *et al* (2004).

TAMANHO DO TUMOR PRIMÁRIO (T)	
TX	Nenhuma informação disponível sobre tumor primário
T0	Nenhuma evidência de tumor primário
T1S	Apenas carcinoma <i>in situ</i> em estágio primário
T1	Tumor com menos de 2 cm em seu diâmetro maior
T2	Tumor com 2 a 4 cm em seu diâmetro maior
T3	Tumor com mais de 4 cm em seu diâmetro maior
T4	Massa tumoral com mais de 4 cm de diâmetro com envolvimento do antro, músculos pterigóides, base da língua ou pele
ENVOLVIMENTO DE LINFONODO REGIONAL (N)	
NX	Nodos não puderam ser ou não foram identificados
N0	Nenhum nodo clinicamente positivo
N1	Um único nodo homolateral clinicamente positivo com menos de 3 cm de diâmetro
N2	Um único nodo homolateral clinicamente positivo com 3 a 6 cm de diâmetro ou múltiplos nodos homolaterais clinicamente positivos, nenhum com mais de 6 cm de diâmetro
N2a	Um único nodo homolateral clinicamente positivo com 3 a 6 cm de diâmetro
N2b	Múltiplos nodos homolaterais clinicamente positivos, nenhum com mais de 6 cm de diâmetro
N3	Massa sólida homolateral no(s) nodo(s), nodos bilaterais, ou nodo(s) contralateral(is)
N3a	Nodo(s) homolateral(is) clinicamente positivo(s), um deles com mais de 6 cm de diâmetro
N3b	Nodos bilaterais clinicamente positivos
N3c	Nodo(s) contralateral(is) clinicamente positivo(s)
ENVOLVIMENTO POR METÁSTASES DISTANTES (M)	
MX	Metástases distantes não foram identificadas
M0	Nenhuma evidência de metástase distante
M1	Metástase distante está presente

Quadro 2. Taxa de sobrevida do paciente, de acordo com o estadiamento clínico para o CEC bucal segundo NEVILLE *et al* (2004).

ESTÁGIO	CLASSIFICAÇÃO TNM	TAXA DE SOBREVIVÊNCIA DE 5 ANOS
Estágio I	T1 N0 M0	85%
Estágio II	T2 N0 M0	66%
Estágio III	T3 N0 M0, ou T1, T2, ou T3, N1 M0	41%
Estágio IV	Qualquer lesão T4, ou Qualquer lesão N2 ou N3, ou Qualquer lesão M1	9%

A sobrevivência e as funções preservadas a longo prazo após a terapêutica dependem do estágio do tumor, ou seja, do grau de invasão das estruturas circunvizinhas, do comprometimento dos linfonodos regionais e da metástase a órgãos mais distantes, bem como do plano de tratamento delineado. O último deverá ser desenvolvido por equipe multidisciplinar, e o prognóstico dependerá da terapia escolhida e de fatores intrínsecos ao indivíduo, como seu estado nutricional, da existência de co-morbidades, da saúde em geral do paciente ou se ele faz uso de tabaco e/ou álcool (RHODUS, 2009).

As modalidades mais empregadas visando à cura do paciente em câncer de boca são as cirurgias locais com margens de segurança, a radioterapia ou a associação de ambos. Pode-se também optar pela quimioterapia na tentativa de maior êxito no âmbito da preservação das funções e na profilaxia de metástases à distância. O tratamento pode ser apenas paliativo ao garantir o controle da dor e maior qualidade de vida nos casos de pior prognóstico. É importante ressaltar que o tratamento cirúrgico do câncer de boca sempre causa mutilações (EPSTEIN *et al*, 2007; RHODUS, 2009).

1.4 MÉTODOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO

Visto que o diagnóstico precoce do câncer de boca está diretamente relacionado com melhor prognóstico e menor morbidade e que o rastreamento das lesões cancerizáveis é importante para tal, métodos auxiliares de diagnóstico foram desenvolvidos com o intuito de melhorar a avaliação de lesões suspeitas (EPSTEIN *et al*, 2007).

O minucioso exame físico da cavidade oral constitui ainda o melhor método de detecção precoce das alterações epiteliais. Como critérios para suspeita de malignidade observam-se modificações na textura superficial da lesão, perda da integridade tecidual, cor, tamanho, bordos irregulares, mobilidade, consistência a palpação e o histórico de evolução da lesão (EPSTEIN *et al*, 2007). A biópsia tecidual seguida pelo exame histopatológico continua sendo o padrão-ouro, ou seja, o melhor e mais seguro método auxiliar do diagnóstico clínico (SILVERMAN, 2004).

Destacando o significado do diagnóstico precoce das neoplasias malignas, técnicas de diagnóstico vêm sendo adaptadas da área médica com resultados promissores para a odontologia. Enfatiza-se a técnica que se utiliza soluções ácidas com finalidade de limpeza da superfície da lesão, seguida da aplicação do corante tecidual **Azul de Toluidina**, nova limpeza dos excessos e aplicação do dispositivo de **Quimioluminiscência**, o qual tem por finalidade evidenciar as características de lesões bucais brancas com suspeitas de malignidade e facilitar seu diagnóstico e monitoramento (EPSTEIN *et al*, 2007; RHODUS, 2009; FARAH & McCULLOUGH, 2008; LESTÓN & DIOS, 2010).

O termo Quimioluminiscência refere-se à emissão de luz advinda de uma reação química (RHODUS, 2009). Como as células displásicas apresentam núcleo maior em comparação as normais, ou seja, relação núcleo-citoplasma alterada, ao receberem uma luz azul cujo comprimento está entre 490 e 510nm, refletem esta luz, diferentemente das células normais que a absorvem. Deste modo, espera-se que os limites da lesão sejam salientados (FARAH & McCULLOUGH, 2008).

Além disso, esta técnica é indolor, não prejudicial a saúde e pode ser utilizada facilmente por cirurgiões-dentistas e técnicos menos experientes na área do diagnóstico bucal. Pacientes com positividade de uma determinada lesão para a Quimioluminiscência seriam encaminhados para a realização de biópsia ou remoção cirúrgica da lesão, ambas subsequentes a exame histopatológico (LASKIN, 2007).

1.4.1 Corante Azul de Toluidina

O corante Azul de Toluidina é amplamente utilizado há décadas no exercício da especialidade médica ginecológica, no âmbito de detectar precocemente alterações na mucosa do aparelho reprodutor feminino, representando um método auxiliar de diagnóstico de malignidades do colo do útero. Da mesma forma, esta técnica vem

sendo empregada na Odontologia há cerca de 30 anos e amplos são os estudos que demonstram que o Azul de Toluidina representa uma ferramenta diagnóstica atóxica, rápida, de baixo custo e eficiente (GLENNY *et al*, 2003; MISSMANN *et al*, 2006; NAGARAJU *et al*, 2010).

O Azul de Toluidina, cientificamente denominado cloreto de tolônio, integra o grupo tiazina dos corantes metacromáticos. O composto químico frequentemente é formado por um duplo sal de cloreto de zinco do grupo amino dimetil, o cloreto amino-toluenotiazínico, o qual é parcialmente solúvel em água e em álcool, podendo ser utilizado por via externa, de modo endovenoso, ou como corante superficial de uso tópico, forma empregada nas mucosas (MISSMANN *et al*, 2006).

O mecanismo de ação deste corante como auxiliar na detecção de lesões suspeitas de malignidade baseia-se na afinidade que o Azul de Toluidina possui com os ácidos nucleicos que compõem o DNA e RNA celular (como sulfatos, carboxilatos e radicais de fosfato), presentes em maior quantidade nas células alteradas (MISSMANN *et al*, 2006; NAGARAJU *et al*, 2010). Deste modo, estas células, ao absorverem maior quantidade de corante, promovem uma mancha escura na lesão, no local onde estão concentradas. Assim, quanto mais corada apresenta-se uma área, maiores as chances de haver displasia epitelial naquele local (NAGARAJU *et al*, 2010).

Desta forma, as lesões suspeitas que exponham grande retenção do Azul de Toluidina têm maior probabilidade de apresentarem-se ao exame histopatológico após biópsia, como displasia grave ou até mesmo como carcinomas *in situ* ou já invasivos (MISSMANN *et al*, 2006; NAGARAJU *et al*, 2010).

Em relação à sensibilidade e especificidade deste corante, a literatura aponta variação de 72% a 100% para a primeira, e de 45% a 93% para a última (MISSMANN *et al*, 2006). Apesar destes valores altos, os quais agregam confiabilidade à técnica, deve-se observar que o Azul de Toluidina utilizado de forma tópica atinge somente as camadas celulares mais superficiais (cerca de três a quatro camadas de células). Deste modo, lesões malignas iniciais, as quais ainda detêm revestimento por epitélio intacto não são coradas pelo Azul de Toluidina (EPHROS *et al*; 1999).

Os estudos demonstram que cerca de 8% das lesões coradas representam falsos positivos, geralmente representados por áreas traumatizadas ou inflamadas, que retêm grande quantidade de Azul de Toluidina sem que haja displasia celular. Ao observar tais condições em

uma lesão com suspeita de malignidade recomenda-se repetir o teste após 14 dias, período suficiente para diminuição do processo inflamatório agudo ou biopsiar um sítio da lesão que não esteja inflamado. Ao respeitar-se este tempo, a precisão da técnica nestas lesões que apresentaram trauma chega a 80%. Ao observar tais dados pode-se concluir que este corante representa um eficiente e confiável teste (MARK *et al*, 2008).

Em resumo, o Azul de Toluidina compõe um complemento útil na identificação de lesões suspeitas de malignidade através da fixação do corante melhorando a definição das margens da lesão. Pode-se ressaltar ainda, a utilização deste corante como auxiliar na seleção da melhor área de biópsia, por meio da observação das diferentes intensidades do Azul de Toluidina retido na lesão. A técnica também pode acelerar a decisão de realizar a biópsia mediante a coloração intensa do local (NAGARAJU *et al*, 2010).

A seleção do sítio a ser biopsiado pode ser especialmente difícil nas eritroplasias que não se apresentarem de forma uniforme, bem como nas lesões de pacientes que já receberam tratamento para o câncer, seja com radioterapia ou por meio de cirurgia. O Azul de Toluidina também pode auxiliar no controle pós-tratamento destas áreas (MARK *et al*, 2008).

A radioterapia resulta em alterações na mucosa antes normal, como atrofia epitelial, modificação do padrão vascular, e fibrose no tecido conjuntivo, fatores que dificultam na avaliação clínica. Ainda, devido a irradiação, a área biopsiada após o tratamento com radioterapia apresenta atraso na cicatrização. Desta forma, se o local em questão reteve pouco ou nenhum Azul de Toluidina, a decisão da biópsia pode ser adiada (MARK *et al*, 2008).

Deve-se considerar também que o desconforto bucal, relatado em aproximadamente 50% dos pacientes submetidos à radioterapia após um ano, o que pode dificultar consideravelmente o exame clínico, representando um motivo a mais para a utilização de métodos auxiliares de diagnóstico. Desta forma, o Azul de Toluidina é indicado na avaliação destes pacientes, pois irá auxiliar na escolha do local da biópsia e aumentar o rendimento diagnóstico (MARK *et al*, 2008).

A imunossupressão recentemente vem sendo associada ao maior risco de desenvolvimento de CEC, já que estudos moleculares apontam que os mesmos padrões de perda alélica são observados em pacientes imunossuprimidos e nas lesões de CEC. Então o Azul de Toluidina pode ser utilizado frente a lesões suspeitas em indivíduos com imunossupressão (JEMAL, 2005; MARK *et al*, 2008).

A técnica de utilização deste corante, aplicada neste trabalho preconizada segundo ESTHER & LASKIN (2007) consiste nos seguintes passos:

1. Aplicação de ácido acético 1% em veículo aquoso por 1 minuto na lesão, com auxílio de cotonete estéril, para remover a barreira de glicoproteína celular e promover uma leve desidratação da mucosa, a qual aparece mais branca.
2. Aplicação do Azul de Toluidina 0,5% por mais 1 minuto também por meio de cotonete estéril.
3. Nova aplicação do ácido acético por 1 minuto, com a finalidade de remover os excessos do Azul de Toluidina.

1.4.2 Reação de Quimioluminiscência

O termo Quimioluminiscência refere-se à emissão de luz advinda de uma reação química (RHODUS, 2009). Como as células displásicas apresentam núcleo maior em comparação as normais, ou seja, relação núcleo-citoplasma alterada, ao receberem uma luz azul cujo comprimento está entre 490 e 510nm, refletem esta luz, diferentemente das células normais que a absorvem. Deste modo, espera-se que os bordos brancos da lesão sejam salientados, bem como irregularidades nas margens, brilho e forma (FARAH & McCULLOUGH, 2008).

O método consiste em aplicar sobre a mucosa um agente que promova leve desidratação do citoplasma celular como solução de ácido acético, o qual também remove a barreira glicoproteica das células que compõe a lesão suspeita, desta forma, lesões orais brancas são evidenciadas, pois a ação da solução ácida promove alterações no padrão de refração de luz da célula. Isto ocorre somente no epitélio alterado, devido à atipia celular, representada através da relação núcleo-citoplasma alterada, onde o núcleo está proporcionalmente maior que o citoplasma, quando comparado a célula normal (FARAH & McCULLOUGH, 2008).

Após este processo deve-se agitar o dispositivo que contem os compostos da reação de Quimioluminiscência, ativando a luz e aplicando-a sobre a mucosa normal e a lesão tratada com solução de ácido acético. Novamente, por meio da modificação do padrão de refração de luz que as células atípicas apresentam, a luz da reação é absorvida pelo epitélio sadio e refletida pelo tecido alterado. Assim, a

lesão suspeita mostra-se mais branca, ou seja, mais evidente, o que favorece a avaliação e delimitação dos bordos da mesma, bem como a seleção do melhor sítio de biópsia (FARAH & McCULLOUGH, 2008; ESTHER & LASKIN, 2007; RAM & SIAR, 2005).

Pode-se agregar maior confiabilidade ao teste de Quimioluminiscência quando o mesmo é associado à técnica que se utiliza do corante Azul de Toluidina como método auxiliar de diagnóstico (FARAH & McCULLOUGH, 2008). A técnica segundo EPSTEIN *et al* (2007), RHODUS (2009), FARAH & McCULLOUGH (2008), LESTÓN & DIOS (2010) consiste nas etapas:

1. Limpeza da lesão bucal com solução de ácido acético a 1% por um minuto, com auxílio de cotonete estéril;
2. Aplicação do Azul de Toluidina a 0,5% por um minuto com auxílio de cotonete estéril;
3. Remoção dos excessos do corante, com ácido acético a 1% por um minuto com auxílio de cotonete estéril;
4. Avaliação clínica da área corada;
5. Uso do dispositivo de Quimioluminiscência, objetivando melhorar a visualização da área corada;
6. Reavaliação clínica.

A reação completa da emissão de luz do sistema de Quimioluminiscência representa segredo industrial, não sendo, portanto, totalmente anunciada por seus fabricantes. O que é por eles divulgado refere-se ao fato do sistema ser composto de uma cápsula plástica que abriga ácido acetilsalicílico e um delicado frasco vítreo o qual contém peróxido de hidrogênio. A ativação da reação é dada com o movimento de flexão da cápsula, o qual promove o rompimento do invólucro

56 por consequência a liberação do peróxido de hidrogênio cor interior, iniciando uma reação de peróxi-oxi (NAIHMASUR, 2009; FARAH & McCULLOUGH, 2008).

Todavia, o que a literatura aponta é que somente a mistura destes dois componentes não seria suficiente para desencadear a reação esperada havendo necessidade do envolvimento de outros reagentes. A reação de Quimioluminiscência ocorre com a produção de uma

substância no seu estado eletrônico excitado denominada de intermediário de alta energia que pode emitir luz através de um processo direto ou indireto. No primeiro, a decomposição do intermediário de alta energia conduz à formação de um produto em estado eletronicamente excitado que por seu decaimento ao estado fundamental emite luz. Já no processo indireto, a luz é proveniente de outro reagente, o qual pode ser um corante, que é aceptor da energia de excitação do intermediário, e cujo estado excitado se forma por uma transferência de energia intermolecular, que resulta em emissão de luz (STEVANI & BEADER, 1998).

O sistema peróxi-oxalato, que é dado através da reação de cloreto de oxalila ou de ésteres fenólicos do ácido oxálico, contendo substituintes aceptores de elétrons, que com o peróxido de hidrogênio e em presença dos ativadores, os quais são tipicamente compostos aromáticos policondensados com baixo potencial de oxidação e alto rendimento quântico de fluorescência, representa a reação quimioluminescente mais eficiente conhecida (STEVANI & BEADER, 1998).

Em resumo, a reação com o peróxido de hidrogênio forma, em vários estágios, um peróxido cíclico (provavelmente 1,2-dioxetanodiona) que é o intermediário de alta energia. Este interage com o ativador, o qual é o aceptor de elétrons, que agora no estado eletronicamente excitado emite luz de fluorescência e retorna ao estado fundamental (ARRIBAS *et al.*, 1998). O ácido acetilsalicílico descrito pelos fabricantes, provavelmente é o catalisador desta reação (STEVANI & BEADER, 1998).

A avaliação clínica das lesões suspeitas de malignidade por meio do uso do Azul de Toluidina seguido da Quimioluminescência constitui um método relativamente simples e que contribui para melhor visualização das lesões, porém, é importante ressaltar que esta ferramenta apenas evidencia uma área, mas não distingue hiperkeratoses associadas a lesões malignas de hiperkeratoses associadas a lesões benignas, bem como de outras condições que promovem inflamação na mucosa, como o Líquen Plano Bucal (FARAH *et al.*, 2008).

Esta técnica é importante para melhor avaliar lesões, por meio da evidênciação e delimitação dos bordos das mesmas, o que contribui significativamente para a decisão de biópsia, bem como para a escolha do local a ser biopsiado, visto que o exame histopatológico continua sendo o padrão ouro para diagnosticar áreas suspeitas (FARAH & McCULLOUGH, 2008; RAM & SIAR, 2005; ESTHER & LASKIN, 2007).

1.4.3 Outras técnicas auxiliares de diagnóstico

1.4.3.1 Biópsia e exame histopatológico

A biópsia seguida do exame histopatológico continua sendo o padrão ouro no diagnóstico de lesões cancerizáveis, sendo a presença e os graus de displasia epitelial os melhores indicadores para avaliação de uma lesão suspeita (SILVERMAN, 2004; MENDES *et al*, 2010). No entanto, existem limitações inerentes a técnica, como má seleção do sítio de biópsia, procedimento cirúrgico mal executado e erros no processamento das lâminas, além do fato de que a definição dos terços do epitélio, utilizada para classificar os graus de displasia, ocorrer de modo subjetivo permitindo que diferentes patologistas graduem as alterações epiteliais de forma não igual (LESTÓN & DIOS, 2010; FARAH & McCULLOUGH, 2008).

Contudo, é importante destacar que limitações são inerentes a qualquer método, e a biópsia seguida da histopatologia é ainda o mais confiável. Ainda, deve-se lembrar que os métodos auxiliares de diagnóstico são importantes para confirmar uma suspeita clínica, a qual é soberana. Portanto, independente do resultado histopatológico a correlação com as observações clínicas representa o dado diagnóstico mais importante (FARAH & McCULLOUGH, 2008).

1.4.3.2 Citologia Esfoliativa

A citologia esfoliativa (CE) compreende o estudo e a interpretação das características das células que foram descamadas, de modo natural ou artificial, da mucosa oral (PEREZ *et al*, 2009; LESTÓN & DIOS, 2010). Este método pode ser utilizado como ferramenta de diagnóstico, ou ainda, para o monitoramento de áreas suspeitas de uma lesão de limites extensos e para a seleção do m

58 biópsia (FREITAS *et al*, 2004; LESTÓN & DIOS, 2010).

se faz importante para o diagnóstico de lesões relacionadas com infecções fúngicas e virais (MENDES *et al*, 2010).

Para o correto diagnóstico via CE é necessário um esfregaço celular de boa qualidade, o qual permita a descamação de células das camadas epiteliais mais profundas, especialmente quando se busca o diagnóstico de lesões intra-epiteliais (MENDES *et al*, 2010). O instrumento utilizado para tal é uma escova circular projetada para

atingir as três camadas de células do epitélio oral com o mínimo de desconforto e sangramento para o paciente (FARAH & McCULLOUGH, 2008).

A sensibilidade da CE é estimada entre 52 e 100% e a especificidade entre 29 e 100% para a detecção de displasia epitelial (LESTÓN & DIOS, 2010). Em lesões cujo diagnóstico clínico é de carcinoma espinocelular a sensibilidade da CE pode apresentar variação entre 77 e 100%, e a especificidade valores entre 89 e 100% (MENDES *et al*, 2010).

1.4.3.3 Solução de Iodo Lugol

O Iodo Lugol possui afinidade com o glicogênio contido no citoplasma celular. A área que absorve o iodo apresenta-se na forma de uma mancha marrom escura. Como as células normais apresentam maior quantidade de grânulos de glicogênio em relação às tumorais, as unidades normais são coradas com o iodo e as alteradas não. Desta forma, o sítio não corado deve ser biopsiado, pois é suspeito de alteração celular (MARK *et al*, 2008; ESTHER & LASKIN, 2007; MENDES *et al*, 2010).

1.4.3.4 Técnicas de emissão de luz

As técnicas de emissão de luz parecem ter os mesmos princípios da Quimiluminescência, onde as células displásicas refletem a luz de forma diferente das normais, o que evidencia as características da lesão. O emprego de soluções ácidas, como o ácido acético a 1% previamente à emissão de luz também é necessário. A grande vantagem das técnicas de emissão física da luz em relação à QL consiste no fato das primeiras utilizarem baterias recarregáveis para gerar luz. Assim o sistema pode ser reutilizado diversas vezes, diferentemente da QL (MENDES *et al*, 2010).

A autofluorescência também representa uma ferramenta auxiliar de diagnóstico. Este método consiste em aplicar uma luz azul de excitação, cujo comprimento de onda está entre 400 e 460 nm, sobre o epitélio para ativar a fluorescência verde e vermelha dos tecidos orais (FARAH & McCULLOUGH, 2008).

As células normais emitem pouca fluorescência, o que resulta em coloração verde pálido. Ao contrário, as células displásicas ou tumorais emitem luz verde escuro (FARAH & McCULLOUGH, 2008).

A sensibilidade deste sistema é estimada em 78% e a especificidade em 71% (MENDES *et al*, 2010).

Artigo

2. ARTIGO

2.1 Artigo para publicação

Este artigo foi submetido à apreciação visando publicação pela revista científica *European Journal Of Cancer Prevention*, considerada Qualis A2 pela CAPES.

USO DA TÉCNICA DO AZUL DE TOLUIDINA SEGUIDO DA QUIMIOLUMINISCÊNCIA EM LESÕES BUCAIS CANCERIZÁVEIS: ESTUDO QUALITATIVO DE 50 CASOS

Mariáh Luz Lisboa*, Liliane J. Grando**, Maria Luisa Somacarrera Peres***.

O diagnóstico precoce do câncer de boca é fundamental para elevar as taxas de sobrevida dos pacientes. No entanto, a maioria destas lesões continua sendo diagnosticada nos estágios tardios da doença. Evidências demonstram que o desenvolvimento do câncer bucal está associado ao aparecimento de lesões com potencial de transformação carcinomatosa, denominadas lesões cancerizáveis. Assim, o desenvolvimento de técnicas que facilitem o diagnóstico clínico adequado destas condições merece destaque. Enfatiza-se a técnica do uso do Azul de Toluidina (AT) seguido da Quimioluminiscência (QL), que destaca características de lesões bucais suspeitas de malignidade, facilitando o diagnóstico e monitoramento, além de ajudar na seleção do melhor sítio para realização de biópsia. A amostra foi composta por 50 pacientes adultos portadores de lesões bucais brancas, nos quais se aplicou a técnica em estudo. As lesões foram biopsiadas e os resultados clínicos foram comparados aos histopatológicos, com 80% de concordância. Ao melhor evidenciar a lesão e ao sugerir a presença de displasia epitelial em estágios mais avançados, o Azul de Toluidina seguido da Quimioluminiscência torna-se um aliado aos cirurgiões-dentistas menos experientes no estabelecimento do diagnóstico clínico e na eleição do melhor sítio de biópsia.

* Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil.

** Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil.

*** *Sección de Patología Médica Bucofacial y Clínica Integrada de Pacientes Especiales, Departamento de Odontología, Facultad de Ciencias de La Salud, Universidad Europea de Madrid, Espanha.*

INTRODUÇÃO

O diagnóstico tardio do carcinoma da cavidade bucal leva ao aumento da morbidade e ao comprometimento da qualidade de vida do paciente durante as diferentes etapas do tratamento oncológico.^{1, 2}

Sabe-se que o câncer de boca se desenvolve a partir da evolução de lesões epiteliais pré-existentes, conhecidas como lesões cancerizáveis ou pré-malignas.^{3, 4} Dentre elas, destacam-se a Leucoplasia, a Eritroplasia, a Leucoeritroplasia, a Queilite Actínica por exposição solar crônica e a Estomatite Nicotínica.¹⁰ O conhecimento do potencial de transformação maligna destas lesões é o que justifica a importância de estudos envolvendo métodos auxiliares de diagnóstico precoce.

A técnica do Azul de Toluidina (AT) seguido da Quimioluminescência (QL) evidenciaria as características clínicas das lesões bucais suspeitas de malignidade, salientando os limites e as irregularidades da lesão, facilitando a seleção do melhor sítio de biópsia.^{1, 10, 13-16}

O AT apresenta afinidade com o material genético das células epiteliais alteradas comuns nas displasias epiteliais graves, carcinoma *in situ* ou invasivo, promovendo o aparecimento de uma mancha escura na lesão, no local onde estas unidades estariam concentradas.^{17, 18} A QL corresponde à emissão de luz advinda de uma reação química. Como as células epiteliais displásicas apresentam a relação núcleo-citoplasma alteradas, ao receberem a luz, refletem a mesma diferentemente das células normais que a absorvem.

Este trabalho teve como objetivos avaliar clinicamente a eficácia da técnica de associação do Azul de Toluidina e da Quimioluminescência em lesões bucais cancerizáveis auxiliando na decisão do melhor sítio a ser biopsiado, bem como comparar os resultados histopatológicos com os diagnósticos clínicos.

MÉTODOS

Os pacientes participantes foram selecionados em dois serviços de Diagnóstico Bucal^I no período entre agosto de 2010 a maio de 2011. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos das duas instituições (protocolo 735/10^I e protocolo 04/09^{II}).

^I Ambulatório de Estomatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC – Brasil).

^{II} Sessão de Patologia Médica Bucofacial e Clínica Integrada de Pacientes Especiais da Faculdade de Ciências de Saúde - Universidade Européia de Madri (UEM – Espanha).

População de Estudo

Pacientes adultos, de ambos os sexos, fumantes ou não, portadores de lesões bucais brancas, lesões bucais cancerizáveis e lesões com diagnóstico clínico de CEC foram incluídos na amostra. As lesões de interesse foram: CEC, leucoplasia, queilite actínica por exposição solar crônica, estomatite nicotínica, hiperkeratose por tabaco, hiperkeratose por atrito, líquen plano nas suas diferentes formas e a candidíase leucoplásica associada ao tabagismo crônico. Após obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido os pacientes foram submetidos à técnica do AT seguido do uso da QL.

Manobras Clínicas

No Brasil, o diagnóstico clínico das lesões foi estabelecido por dois avaliadores, por consenso, sendo um professor e um estudante. Na Espanha, o diagnóstico clínico foi estabelecido por um professor. Ambos os docentes discutiram os critérios diagnósticos clínicos a serem utilizados, previamente ao início do trabalho. Foram considerados os critérios de limites, homogeneidade ou heterogeneidade da cor, textura superficial e consistência à palpação, entre outras. Na sequência, foi aplicada a técnica em estudo evidenciada na Figura 1:^{2, 10, 14, 16}

1. Limpeza da lesão bucal com solução de ácido acético a 1% por um minuto, aplicada sobre a lesão com auxílio de cotonete;
2. Aplicação do AT a 0,5% por um minuto sobre a lesão com auxílio de cotonete;
3. Remoção dos excessos do corante, com ácido acético a 1% por um minuto, com uso de cotonete;
4. Avaliação clínica da área corada;
5. Uso do dispositivo de QL, objetivando melhorar a visualização da área corada;
6. Reavaliação clínica e seleção do sítio de biópsia.

Após a técnica do AT (itens 1, 2, 3 e 4) as lesões foram submetidas à QL. Os reagentes presentes no dispositivo de QL[®] ^{III} vêm acondicionados em um dispositivo plástico. Para ativar a reação, o dispositivo é flexionado a fim de promover a ruptura de um delicado

^{III} ViziLite Plus ®, da Zila Pharmaceutic, Inc.

frasco vítreo presente no seu interior, contendo peróxido de hidrogênio.^{2, 10} No momento em que os dois reagentes entram em contato e se misturam, emitem luz. A seguir, a luz ambiente é desligada e o dispositivo levado até próximo a lesão. Cada dispositivo permanece ativado por até 10 minutos, podendo ser usado em um único paciente antes de ser descartado.

As áreas mais coradas e mais evidenciadas pela luz foram selecionadas e posteriormente biopsiadas (biópsia incisional ou excisional, de acordo com a indicação clínica). O material coletado foi encaminhado para exame histopatológico^{IV e V}. As displasias epiteliais foram diagnosticadas em leve, moderada e severa, de acordo com aqueles preconizados pela OMS.

O diagnóstico clínico, a localização da lesão e o laudo histopatológico foram registrados no prontuário do paciente e em ficha própria.

Análise estatística e descritiva dos resultados

Os dados foram organizados em planilhas do programa Office Excel.2007^{® VI}, analisados através do software estatístico *SPSS 16.0*; empregando-se o teste de Qui-quadrado para verificar a existência de associação entre as variáveis, ao nível de significância de 5%. Os dados de maior interesse foram apresentados em forma de tabelas e gráficos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 50 pacientes que integraram a amostra foram distribuídos em dois grupos: **(A)** pacientes originados do Brasil ($n = 22$) e **(B)** pacientes da Espanha ($n = 28$). A tabela 1 apresenta os dados de distribuição dos pacientes por faixa etária e gênero. As informações referentes à idade dos participantes da Espanha não foram disponibilizadas.

O gráfico 1 mostra a distribuição das 84 lesões que foram submetidas a técnica estudada, segundo o diagnóstico clínico e grupo pertencente. A Figura 1 evidencia o passo-a-passo da técnica. Nenhum paciente relatou dificuldades ou efeitos colaterais relacionados ao

^{IV} Laboratório de Patologia Bucal, Curso de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil.

^V CITOPATH, S.L. Laboratório de Patologia Diagnóstica. Laboratório cooperado a Universidade Européia de Madri, Espanha.

^{VI} Microsoft Corporation®

método; eventualmente foi relatado desconforto devido ao gosto desagradável do ácido acético a 1%.

Somente 45 das 84 lesões foram submetidas à biópsia. As demais lesões não foram biopsiadas por falta de indicação clínica (diagnóstico clínico patognomônico; lesões múltiplas compondo uma mesma doença, tendo sido coradas em dois sítios e biopsiada somente em um deles).

Considerando-se toda a amostra, 80% dos diagnósticos clínicos foram compatíveis com os achados histopatológicos (Tabela 2), resultado considerado estatisticamente significativo ($p < 0,05$). A Figura 2 mostra lesões da amostra antes e após o uso da técnica, bem como seus respectivos exames histopatológicos.

A técnica em estudo é considerada um método auxiliar ao exame físico tradicional de lesões brancas da mucosa, bem como para o monitoramento das mesmas, principalmente em pacientes expostos aos fatores de risco para o desenvolvimento do câncer bucal.² Seu uso pode estar indicado para acadêmicos de Odontologia e para profissionais com menor experiência clínica no diagnóstico de lesões bucais cancerizáveis.¹⁰

O uso do AT pode representar uma ferramenta auxiliar de diagnóstico precoce.^{9, 14, 17, 19} O método é considerado de alta sensibilidade (cerca de 80%). Nos casos de lesões malignas ou displasias epiteliais severas esta porcentagem aumenta, já nas displasias leves e moderadas, o corante tem-se mostrado menos sensível.^{14, 19, 20}

A transformação carcinomatosa do Líquen Plano Bucal (LPB), não está totalmente esclarecida na literatura.²² Das lesões de Líquen Plano Bucal estudadas, somente absorveram o corante aquelas que se encontravam na forma de placa espessa (Figura 3 A, B) ou ulceradas (Figura 2 G, H, I). As demais lesões de LPB apresentaram pouca ou nenhuma absorção do AT (Figura 3 C, D).

A QL apresenta sensibilidade de 100%, em lesões fortemente sugestivas de malignidade.^{9, 20} Esta luz evidencia os limites entre a mucosa normal e a alterada, por tornar sua área mais esbranquiçada e brilhante.^{9, 20} Estes critérios clínicos subjetivos e observacionais foram igualmente utilizados em nosso estudo.

Em alguns casos houve melhor evidenciação de limites não tão bem identificados previamente ao uso da QL, contribuindo de forma positiva ao diagnóstico. LESTÓN & DIOS (2010), ESTHER & LASKIN (2007) e RAM & SIAR (2005) relataram que esta contribuição nem sempre é obtida. Para RAM & SIAR (2005), os limites das lesões podem ser melhor observados com análise fotográfica do que a olho nu. Em condições ideais, a QL deve ser utilizada em ambientes totalmente

isentos de luz, o que nem sempre foi possível de se realizar em nosso estudo. Para a realidade brasileira, o custo da técnica QL é considerado elevado.

Observou-se que, quanto maior a intensidade da cor azul marcada, maior foi o grau de displasia epitelial.^{4, 18, 20} Mesmo apresentando maior sensibilidade em comparação ao AT, a QL isoladamente não tem capacidade de indicar os possíveis graus de displasia epitelial.^{14, 20, 21} A biópsia continua sendo o padrão ouro para classificar e determinar a gravidade das lesões.^{2, 9, 10, 20}

A associação entre AT e QL confere melhores resultados, tornando-se um importante aliado aos acadêmicos e aos cirurgiões-dentistas menos experientes. O estudo envolvendo métodos de diagnóstico precoce do câncer bucal deve ser estimulado, pois se sabe que o tratamento da doença nas suas fases iniciais, constitui uma ferramenta importante para elevar as taxas de sobrevivência dos pacientes.^{2, 10, 14}

REFERÊNCIAS

1. ESTHER SO, LASKIN, DM. Efficacy of the ViziLite System in the Identification of Oral Lesions. *American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 2007; p. 424 – 426.
2. FARAH CS; McCULLOUGH MJ. A pilot case control study on the efficacy of acetic acid wash and chemiluminescent illumination (ViziLiteTM) in the visualization of oral mucosal white lesions. *Journal Oral Oncology* 2007; 43: 820-824.
3. SHIU MN, CHEN TH, CHANG SH, HAHN LJ. Risk factors for leukoplakia and malignant transformation to oral carcinoma: a leukoplakia cohort in Taiwan. *Br J Cancer* 2000; 82:1871-1874.
4. SU WWY, YEN AMF, CHIU SYH, CHEN THH. A community-based RCT for Oral Cancer Screening with Toluidine Blue. *J Dent Res* 72 (9): 933-937.
5. THOMSON PJ, HAMADAH O. Cancerisation within the oral cavity: The use of ‘field mapping biopsies’ in clinical management. *Oral Oncology* 2007; 43: 20– 26.

6. THOMSON PJ, HAMADAH O, GOODSON, ML, CRAGG, N, BOOTH C. Predicting recurrence after oral precancer treatment: use of cell cycle analysis. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2008; 46: 370–375.
7. REIBEL J. Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14(1):47-62.
8. BOGLIOLO, Luigi; BRASILEIRO FILHO, Geraldo. Patologia [de] Bogliolo. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c2006. xiv,1472p. ISBN 9788527712224.
9. EPSTEIN JB, SILVERMAN JR S, EPSTEIN JD, LONKY SA, BRIDE MA. Analysis of oral lesion biopsies identified and evaluated by visual examination, chemiluminescent and toluidine blue. *Journal Oral Oncology* 2008; 44: 538–544.
10. RHODUS NL. Oral cancer and precancer: improving outcomes. *Compendium* 2009; 30: 486 – 504.
11. SILVERMAN Jr, S. Oral cancer. 5a ed. Hamilton: London, 2003; 212 p.
12. RODRIGUES TLC, COSTA LJ, SAMPAIO MCC, RODRIGUES FG, COSTA ALL. Leucoplasias bucais: relação clínico-histopatológica. *Pesqui Odontol Bras* 2000; 14: 357-361.
13. NAIKMASUR VG, SATTUR AP, MUTALIK S, THAKUR AR. Recent advances in diagnostic oral medicine. *Jornal of Indian Academy or Oral Medicine and Radiology* 2009;21: 99-103.
14. EPSTEIN JB, SCIUBBA J, SILVERMAN JR S, SROUSSI HY. Utility of toluidine blue in oral premalignant lesions and squamous cell carcinoma: continuing research and implications for clinical practice. *Head and Neck Rev* 2007; 10:948-956.
15. FARAH CS, McCULLOUGH JM. Oral cancer awareness for the general practitioner: new approaches to patient care. *Australian Dental Journal* 2008; 53: 2-10.

16. LÉSTON JS, DIOS PD. Diagnostic clinical aids in oral cancer. *Oral Oncology* 2010; 46: 418-422.
17. MISSMANN M, JANK S, LAIMER K, GASSNER R. A reason for the use of Toluidine Blue staining in the presurgical management of patients with oral squamous cell carcinomas. *OOOOE* 2006; 102: 741-743.
18. NAGARAJU K, PRASAD S, ASHOK L. Diagnostic efficiency of Toluidine Blue with Lugol's iodine in oral premalignant lesions. *Indian J Dent Res* 2010; 2:21.
19. RAMOS GHA *et al.* Avaliação da citologia e do teste de Azul de Toluidina no diagnóstico dos tumores malignos da mucosa oral. *Rev Bras Cir Cabeça Pescoço* 2007.
20. RAM S, SIAR CH. Chemiluminescence as a diagnostic aid in the detection of oral cancer and potentially malignant epithelial lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005.
21. NAGARAJU K, PRASAD S, ASHOK L. Diagnostic efficiency of Toluidine Blue with Lugol's iodine in oral premalignant lesions. *Indian J Dent Res* 2010; 2:21.
22. MARCUCCI G, CRIVELLO JR O. Estomatologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. XIX,243p. ISBN 9788527710466.

Tabela 1. Distribuição da população estudada segundo os grupos de estudo, distribuição por faixa etária e gênero. Florianópolis, SC, 2011.

GRUPOS		Pacientes que compõe a amostra	
		n	%
GRUPO A *	Sexo		
	Masculino	12,0	54,5
	Feminino	10,0	45,5
	Média de idade	55,7	-
	Distribuição por idade		
	20 – 40	2,0	09,1
	40 – 60	13,0	59,1
	60 – 80	7,0	31,8
TOTAL PARCIAL		22,0	100,0
GRUPO B **	Sexo		
	Masculino	08,0	28,5
	Feminino	20,0	71,5
	Média de idade	dnd	dnd
	Distribuição por idade		
	20 – 40	dnd	dnd
	40 – 60	dnd	dnd
	60 – 80	dnd	dnd
TOTAL PARCIAL		28,0	100,0
TOTAL GERAL		50,0	100,0

* Ambulatório de Estomatologia do Hospital Universitário da UFSC.

** Clínica de Medicina Oral da Universidade Européia de Madrid, Espanha.

dnd: Dado não disponível.

Tabela 2. Diagnóstico clínico das lesões estudadas e correspondência das mesmas com os respectivos exames histopatológicos. Florianópolis, SC, 2011.

Diagnóstico Clínico			Exame histopatológico	Correspondência com a histopatologia				p
				SIM		Não		
			N	n	%	n	%	
GRUPO A***	CEC	2	A	2	-	0	-	-
	Leucoplasia	10*	B	3	-	0	-	-
			C	4	-	0	-	-
			D	2	-	0	-	-
			E	1	-	0	-	-
	Queilite Actínica	3	F	2	-	1	-	-
	Estomatite Nicotínica	1**	B	1	-	0	-	-
	Líquen Plano Bucal		4	D	0	-	1	-
			G	3	-	0	-	-
	Reação Líquenóide	1	G	1	-	0	-	-
	Hiperkeratose por tabaco	1	B	1	-	0	-	-
	Hiperkeratose por atrito	1	B	1	-	0	-	-
	Candidíase Leucoplásica	2*	H	2	-	0	-	-
TOTAL PARCIAL			22	20	90,9	2	9,1	0,000****
GRUPO B****	CEC	2	A	2	-	0	-	-
	Leucoplasia	4	B	4	-	0	-	-
	Líquen Plano Bucal	19	G	11	-	8	-	-
	Reação Líquenóide	2	G	2	-	0	-	-
	Hiperkeratose por atrito	1	B	1	-	0	-	-
	TOTAL PARCIAL			28	20	71,4	8	28,6
TOTAL GERAL			50	40	80,0	10	20,0	0,000*****

A: Carcinoma Epidermóide.

B: Acantose e hiperkeratose epitelial com ausência de displasia.

C: Acantose e hiperkeratose epitelial displasia leve.

D: Acantose e hiperkeratose epitelial displasia moderada.

E: Acantose e hiperkeratose epitelial displasia intensa.

F: Queilite Actínica.

G: Mucosite crônica de interface compatível com Líquen Plano Bucal.

H: Candidíase.

p: Teste de Qui-quadrado.

* Correspondente a um paciente ($n=1$) com três lesões biopsiadas.

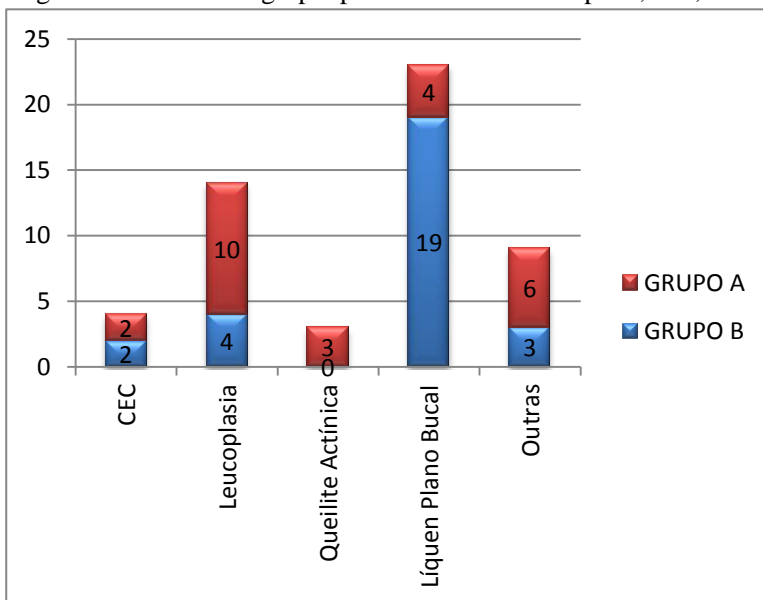
** Correspondente a um paciente ($n=1$) com duas lesões biopsiadas.

*** Ambulatório de Estomatologia do Hospital Universitário da UFSC

**** Clínica de Medicina Oral da Universidade Europeia de Madrid, Espanha

***** Estatisticamente significativo

Gráfico 1. Lesões estudadas distribuídas de acordo com o diagnóstico clínico e grupo pertencente. Florianópolis, SC, 2011.



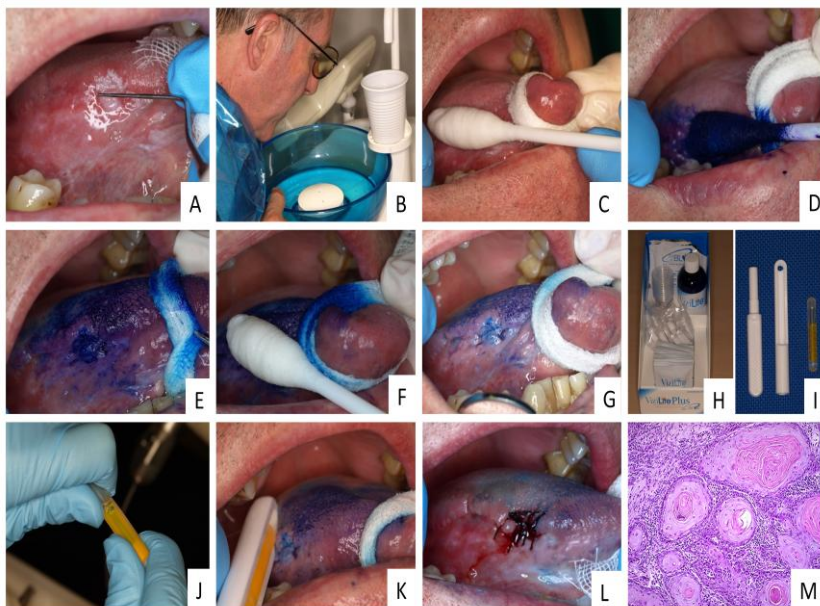


Figura 1. Aplicação da técnica em estudo em paciente da amostra. A: Lesão branca suspeita. B: Bochecho com solução de ácido acético a 1%. C: Aplicação da solução de ácido acético a 1% por 1 minuto. D: Aplicação do Azul de Toluidina (AT) a 0,5% por 1 minuto. E: Lesão após o corante. F: Reaplicação do ácido acético a 1% por 1 minuto. G: Lesão após a técnica do AT, com destaque para a área corada. H: Materiais necessários à técnica do AT. I: Dispositivo de Quimioluminescência (QL). J: Ativação do dispositivo de QL. K: QL em uso. L: Pós-operatório após biópsia excisional da lesão. M: Histopatológico: Carcinoma Epidermóide grau I.

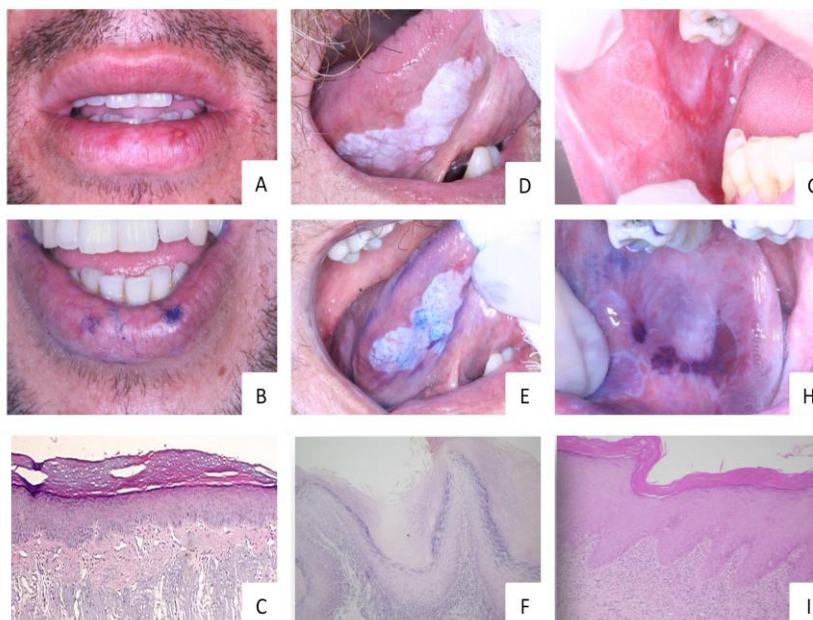


Figura 2. Seleção do sítio de biópsia segundo a área de maior retenção do Azul de Toluidina. A: Queilite Actínica por exposição solar crônica. B: Queilite Actínica após a técnica em estudo. C: Histopatológico com destaque para a degeneração basofílica do colágeno. D: Leucoplasia em paciente fumante. E: Leucoplasia após a técnica em estudo. F: Histopatológico: Hiperplasia do epitélio com acantose e hiperqueratose, com displasia epitelial moderada. G: Líquen Plano Bucal Ulcerado. H: Líquen Plano após a técnica em estudo. I: Histopatológico com destaque para a crista epitelial em forma de “dente de serra”.

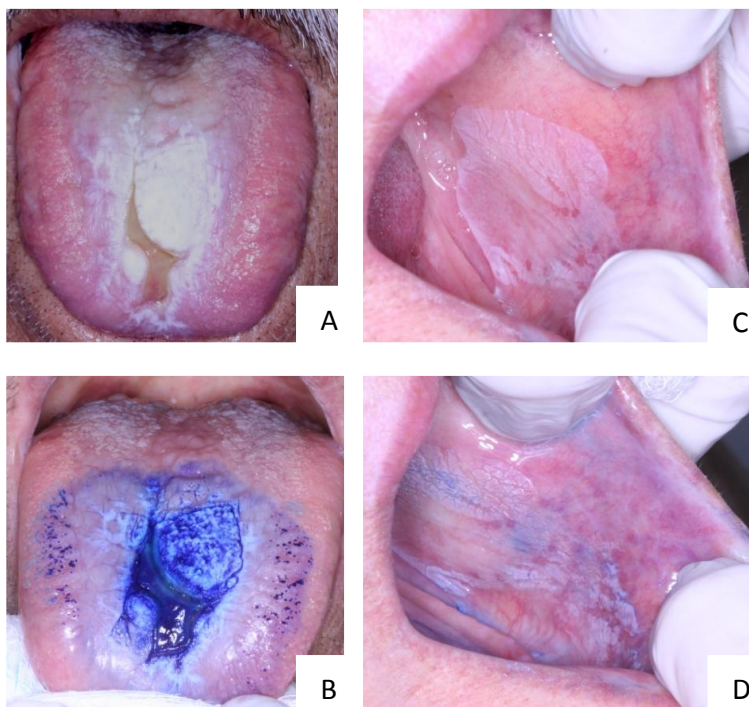


Figura 3. Aplicação da técnica em lesões com diagnóstico clínico de Líquen Plano Bucal. A: Líquen Plano Bucal em placa espessa Ulcerado. B: Evidente retenção do Azul de Toluidina na placa e também na úlcera. C: Líquen Plano Bucal em Placa. D: Pouca retenção do Azul de Toluidina.

Bibliografía Consultada

REFERÊNCIAS

ALBERTIN R *et al.* Quimioluminescência orgânica: alguns experimentos de demonstração para a sala de aula. **Química Nova**, São Paulo, Maio 1998.

BAGAN J, SARRION G, JIMENEZ Y. Oral cancer: Clinical features. **Oral Oncology**, Valencia, Apr 2010.

BOGLIOLO L, BRASILEIRO FILHO G. **Patologia** [de] Bogliolo. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c2006. xiv,1472p. ISBN 9788527712224.

CHUNG CH *et al.* Oral precancerous disorders associated with areca quid chewing, smoking, and alcohol drinking in southern Taiwan. **J Oral Pathol Med**, Taiwan, Mar 2005.

EPHROS H, MASHBERG A. Toluidine blue-viewpoints - Reply to the editor. **OOOOE** 1999;87:526-7. In: MISSMANN M, JANK S, LAIMER K, GASSNER R. A reason for the use of Toluidine Blue staining in the presurgical management of patients with oral squamous cell carcinomas. **OOOOE** 2006; 102: 741-743.

EPSTEIN JB, SILVERMAN JR S, EPSTEIN JD, LONKY SA, BRIDE MA. Analysis of oral lesion biopsies identified and evaluated by visual examination, chemiluminescent and toluidine blue. **Journal Oral Oncology** 2008; 44: 538–544.

EPSTEIN, J.B.; SCIUBBA, J.; SILVERMAN JR, S.; SROUSSI, H.Y.; Utility of toluidine blue in oral premalignant lesions and squamous cell carcinoma: continuing research and implications for clinical practice. **Head and Neck**, v. 10, 948 – 956, October, 2007.

EPSTEIN, J.B.; SILVERMAN JR, S.; EPSTEIN, J.D.; LONKY, S.A.; BRIDE, M.A. Analysis of oral lesion biopsies identified and evaluated by visual examination, chemiluminescent and toluidine blue. **Journal Oral Oncology**, v. 44, p. 538 – 544, January 2008.

ESTHER, S.O.; LASKIN, D.M. Efficacy of the ViziLite System in the Identification of Oral Lesions. **American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons**, p. 424 – 426, 2007.

FARAH, C.S.; McCULLOUGH. A pilot case control study on the efficacy of acetic acid wash and chemiluminescent illumination (ViziLite TM) in the visualization of oral mucosal white lesions. **Journal Oral Oncology**, v. 43, p. 820 – 824, January 2007.

FARAH, C.S.; McCULLOUGH. Oral cancer awareness for the general practitioner: new approaches to patient care. **Australian Dental Journal**, v. 53, p. 2 – 10, 2008.

FARSHADPOU F et al. Head and neck squamous cell carcinoma in non-smoking and non-drinking patients with multiple tumors: etiologic significance of p53 and Ki-67 in non-tumorous epithelium. **J Oral Pathol Med**, Utrecht, Dec 2008.

GOLDBERG, L.H.; WANG, S.Q.; KIMYAI-ASADI, A. The setting sun sign: Visualizing the margins of a basal cell carcinoma on serial frozen sections stained with toluidine blue. **American Society for Dermatologic**, Inc, v. 33, p. 761 – 763, 2007.

HARRIS CK et al. Prevalence of oral mucosal lesions in alcohol misusers in south London. **J Oral Pathol Med**, London, Oct 2003.

HUBER MA, BSOUL AS, TERZHALMY, GT. Acetic acid wash and chemiluminescent illumination as an adjunct to conventional oral soft tissue examination for the detection of dysplasia: A pilot study. **Quintessence Int** 35:378, 2004. In: ESTHER, S.O.; LASKIN, D.M. Efficacy of the ViziLite System in the Identification of Oral Lesions. **American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons**, p. 424 – 426, 2007.

JACOB BJ et al. Betel quid without tobacco as a risk factor for oral precancers. **Oral Oncology**, Los Angeles, Jan 2004.

KREPPPEL M et al. Prognostic Value of the Sixth Edition of the UICC's TNM Classification and Stage Grouping for Oral Cancer. **J Surg Oncol**, Cologne, Jan 2010.

KANOJIA D, VAIDYA MM. 4-Nitroquinoline-1-oxide induce experimental oral carcinogenesis. **Oral Oncology**, Navi Mumbai Oct 2005.

KUJAN, O.; GLENNY, A-M; OLIVER, R.; THAKKER, N.; SLOAN, P. Screening programmes for the early detection and prevention of oral cancer. **Australian Dental Journal**, v. 54, p. 170 – 172, 2009.

LARSEN SR et al. The prognostic significance of histological features in oral squamous cell carcinoma. **J Oral Pathol Med**, Odense, May 2009.

LEE JO, RUSSO AA, PAVLETICH NP. Structure of the retinoblastoma tumour-suppressor pocket domain bound to a peptide from HPV E7. **Nature** 1998; 391:859-65. In: RHODUS, N.L. Oral cancer and precancer: improving outcomes. **Compendium**, v. 30, nº 8, p. 486 – 504, October 2009.

LÉSTON JS, DIOS PD. Diagnostic clinical aids in oral cancer. **Oral Oncology** 2010; 46: 418-422.

MARK EL et al. Critical evaluations of diagnostic aids for the detection of oral cancer. **Oral Oncology** 2008; 44:10-22.

MARCUCCI G, CRIVELLO JR O. **Estomatologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. XIX,243p. ISBN 9788527710466.

MISSMANN M, JANK S, LAIMER K, GASSNER R. A reason for the use of Toluidine Blue staining in the presurgical management of patients with oral squamous cell carcinomas. **OOOOE** 2006; 102: 741-743.

NAGARAJU K, PRASAD S, ASHOK L. Diagnostic efficiency of Toluidine Blue with Lugol's iodine in oral premalignant lesions. **Indian J Dent Res** 2010; 2:21.

NAIKMASUR, V.G.; SATTUR, A.P.; MUTALIK, S.; THAKUR, A.R. Recent advances in diagnostic oral medicine. **Jornal of Indian**

Academy of Oral Medicine and Radiology, v. 21, p. 99 – 103, July / August / September 2009.

NEVILLE BW *et al.* **Patologia oral & maxilofacial**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c2004. 798p. ISBN 8527708558.

OLIVEIRA, MC *et al.* HPV e carcinogênese oral: revisão bibliográfica. **Rev Bras Otorrinolaringol**. V.69, n.4, 553-9, jul./ago. 2003. In: RHODUS, N.L. Oral cancer and precancer: improving outcomes. **Compendium**, v. 30, nº 8, p. 486 – 504, October 2009.

PATTON LL. The effectiveness of community-based visual screening and utility of adjunctive diagnostic aids in the early detection of oral cancer. **Oral Oncol** 2003;39:708-23. In: MISSMANN M, JANK S, LAIMER K, GASSNER R. A reason for the use of Toluidine Blue staining in the presurgical management of patients with oral squamous cell carcinomas. **OOOOE** 2006; 102: 741-743.

PITIYAG G *et al.* Molecular markers in oral epithelial dysplasia: review. **J Oral Pathol Med**, London, May 2009.

POATE TWJ, WARNAKULASURIYA S. Effective management of smoking in an oral dysplasia clinic in London. **Oral Diseases**, London, Feb 2005.

RAGAVENDRA TR, RAMMANOHAR M, SOWMYA K. Morphometric computer-assisted image analysis of oral epithelial cells in normal epithelium and leukoplakia. **J Oral Pathol Med**, Bhopal, Oct 2009.

RAM S, SIAR CH. Chemiluminescence as a diagnostic aid in the detection of oral cancer and potentially malignant epithelial lesions. **Int J Oral Maxillofac Surg**, Kuala Lumpur, Jan 2005.

RAMOS, G.H.A.; OLIVEIRA, B.V; BIASI, L.J; SAMPAIO JR, L.A. Avaliação de citologia e do teste de azul de toluidina no diagnóstico dos tumores malignos da mucosa oral. **Rev. Bras. Cir. Cabeça Pescoço**, v. 36, nº 1, p. 27 – 29, janeiro / fevereiro / março 2007.

REGEZI JA et al. **Patologia oral**: correlações clinicopatológicas. 5. ed. Rio de Janeiro (RJ): ELSEVIER, 2008. xvi,75,417p. ISBN 9788535229806.

REIBEL J. Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. **Crit Rev Oral Biol Med** 2003; 14(1):47-62.

REICHART PA. Identification of risk groups for oral precancer and cancer and preventive measures. **Clin Oral Invest**, Berlin, 5:207–213, Oct 2001.

RHODUS, N.L. Oral cancer and precancer: improving outcomes. **Compendium**, v. 30, nº 8, p. 486 – 504, October 2009.

RODRIGUES, T.L.C.; COSTA, L.J.; SAMPAIO, M.C.C.;
RODRIGUES, F.G.; COSTA, A.L. Leucoplasias bucais: relação clínico-histopatológica. **Pesqui Odontol Bras**, v. 14, p. 357 – outubro / dezembro, 2000.

ROSIN, M.P.; POH, C.F.; GUILLARD, M.; WILLIAMS, P.M.;
ZHANG, L.; MacAULAY, C. Visualization and Other Emerging Technologies as Changes Makers for Oral Cancer Prevention. **New York Academy of Sciences**, p. 167 – 183, 2007.

SCHWARTZ J et al. Inhibition of experimental tobacco carcinogen induced head and neck carcinogenesis. **Oral Oncology**, Valhalla, Dec 2004.

SHIU MN, CHEN TH, CHANG SH, HAHN LJ. Risk factors for leukoplakia and malignant transformation to oral carcinoma: a leukoplakia cohort in Taiwan. **Br J Cancer** 2000; 82:1871-1874.

SHIU, MN; CHEN, TH. Impact of betel quid, tobacco and alcohol on three-stage disease natural history of oral leukoplakia and cancer: implication for prevention of oral cancer. **Eur J Cancer Prev** 2004; 13:39-45.

SHIU, MN; CHEN, TH. Intervention efficacy and malignant transformation to oral câncer among patients with leukoplakia (review). **Oncol Rep** 2003; 10:1683-1692.

SILVA, A.E.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G.D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.2, p.625-633, mar-abr, 2004.

SILVERMAN Jr, S. **Oral cancer**. 5a ed. Hamilton: London, 2003; 212 p.

STEVANI CV, BEADER W. O sistema quimioluminescente peróxi-oxalato. **Química Nova**, São Paulo, Dez 1999.

SU WWY, YEN AMF, CHIU SYH, CHEN THH. A community-based RCT for Oral Cancer Screening with Toluidine Blue. **J Dent Res** 2010; 89(9): 933-937.

SUGIMURA T et al. Gene–environment interaction involved in oral carcinogenesis: molecular epidemiological study for metabolic and DNA repair gene polymorphisms. **J Oral Pathol Med**, Chikusa-ku, Aug 2006.

THOMSON P *et al*. Predicting recurrence after oral precancer treatment: use of cell cycle analysis. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery** 2008; 46: 370–375.

THOMSON PJ, HAMADAH O. Cancerisation within the oral cavity: The use of ‘field mapping biopsies’ in clinical management. **Oral Oncology** 2007; 43: 20– 26.

Warnakulasuriya S et al. Demonstration of ethanol-induced protein adducts in oral leukoplakia (pre-cancer) and cancer. **J Oral Pathol Med**, Seinajoki, Jun 2008.

WARNAKULASURIYA S, JOHNSON NW, WAAL IVD. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. **J Oral Pathol Med**, London, Apr 2007.

Apêndices

APÊNDICE A – BANCO DE DADOS

1. Informações Gerais

Identificação do Participante	Gênero	Idade	Lesões biopsiadas	Origem
ID 01	M	22	0	HU/UFSC
ID 02	M	51	1	HU/UFSC
ID 03	M	69	1	HU/UFSC
ID 04	F	57	1	HU/UFSC
ID 05	F	61	1	HU/UFSC
ID 06	M	46	1	HU/UFSC
ID 07	M	63	1	HU/UFSC
ID 08	F	56	1	HU/UFSC
ID 09	F	78	1	HU/UFSC
ID 10	F	66	1	HU/UFSC
ID 11	M	60	1	HU/UFSC
ID 12	M	47	1	HU/UFSC
ID 13	F	69	1	HU/UFSC
ID 14	F	69	1	HU/UFSC
ID 15	M	53	1	HU/UFSC
ID 16	M	53	1	HU/UFSC
ID 17	F	35	1	HU/UFSC
ID 18	M	43	3	HU/UFSC
ID 19	M	45	1	HU/UFSC
ID 20	F	47	1	HU/UFSC
ID 21	M	45	2	HU/UFSC
ID 22	F	45	1	HU/UFSC
ID 23	M	dnd	1	UEM
ID 24	F	dnd	1	UEM
ID 25	F	dnd	1	UEM
ID 26	F	dnd	1	UEM
ID 27	F	dnd	1	UEM
ID 28	F	dnd	1	UEM
ID 29	F	dnd	1	UEM
ID 30	F	dnd	1	UEM
ID 31	F	dnd	1	UEM

ID 32	M	dnd	1	UEM
Identificação do Participante	Gênero	Idade	Lesões biopsiadas	Origem
ID 33	F	dnd	1	UEM
ID 34	F	dnd	1	UEM
ID 35	F	dnd	1	UEM
ID 36	F	dnd	1	UEM
ID 37	M	dnd	1	UEM
ID 38	F	dnd	1	UEM
ID 39	F	dnd	1	UEM
ID 40	F	dnd	1	UEM
ID 41	F	dnd	1	UEM
ID 42	F	dnd	1	UEM
ID 43	F	dnd	1	UEM
ID 44	M	dnd	1	UEM
ID 45	M	dnd	0	UEM
ID 46	M	dnd	0	UEM
ID 47	F	dnd	0	UEM
ID 48	F	dnd	0	UEM
ID 49	M	dnd	0	UEM
ID 50	M	dnd	0	UEM

Legenda:

Gênero

M: Masculino

F: Feminino

Origem

HU/UFSC: Ambulatório de Estomatologia do Núcleo de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial do Hospital Universitário da UFSC.

UEM: *Sección de Patología Médica Bucofacial y Clínica Integrada de Pacientes Especiales da Facultad de Ciências de La Salud - Universidad Europea de Madrid.*

2. Dados clínicos e histopatológicos

Identificação do Participante	Local da lesão	Diagnóstico clínico	Diagnóstico histopatológico	Correspondência Clínico X Histopatológico
ID 01	LI DL	Queilite Actínica	Bnr	-
ID 02	MJD MJE BLE	Líquen Plano Rendilhado	Líquen Plano	S
ID 03	AB	CEC	CEC	S
ID 04	MJD, MJE	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 05	RASD RAIE RAID MJD MJE PM	Leucoplasia	Acantose e hiperqueratose epitelial displasia leve.	S
ID 06	MJD MJE DL BLE	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 07	PM	Leucoplasia	Acantose e hiperqueratose epitelial com ausência de displasia.	S
ID 08	MJD MJE RAID	Hiperqueratose por tabaco	Acantose e hiperqueratose epitelial displasia leve.	S
ID 09	MJE MJD VLD VLE RAE RAD BLE BLD	Leucoplasia	Acantose e hiperqueratose epitelial displasia intensa.	S
ID 10	MJD RAD RAE	Leucoplasia	Acantose e hiperqueratose epitelial com ausência de displasia.	S
ID 11	DL RAS RAIE	Líquen Plano Ulcerado	Acantose e hiperqueratose epitelial displasia moderada	N
ID 12	MJE BLE	Reação Liquenóide	Mucosite crônica de interface compatível com Líquen Plano Bucal.	S
ID 13	ERA MJD	Candidíase leucoplásica	Candidíase	S
ID 14	LI	Queilite Actínica	Queilite Actínica	S

Identificação do Participante	Local da lesão	Diagnóstico clínico	Diagnóstico histopatológico	Correspondência Clínico X Histopatológico
ID 15	RAD RAE RAA PD PM	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial displasia leve.	S
ID 16	VL	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial displasia moderada.	S
ID 17	GILI	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial displasia moderada.	S
ID 18	GILI	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial displasia leve.	S
	GILS	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial displasia leve.	S
	LI	Queilite Actínica	Queilite Actínica.	S
ID 19	PD	CEC	CEC	S
ID 20	RAD RAE	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial com ausência de displasia.	S
ID 21	PM	Estomatite Nicotínica	Acantose e hiperkeratose epitelial com ausência de displasia.	S
	RCE	Candidíase Leucoplásica	Candidíase.	S
ID 22	RAIDR AIE	Hiperkeratose por Atrito	Acantose e hiperkeratose epitelial com ausência de displasia.	S
ID 23	dnd	dnd	bnr	-
ID 24	dnd	CEC	CEC	S
ID 25	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 26	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 27	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 28	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 29	dnd	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial com ausência de displasia.	S
ID 30	dnd	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial com ausência de displasia.	S

Identificação do Participante	Local da lesão	Diagnóstico clínico	Diagnóstico histopatológico	Correspondência Clínico X Histopatológico
ID 31	Dnd	Hiperkeratose por atrito	Acantose e hiperkeratose epitelial com ausência de displasia.	S
ID 32	Dnd	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial com ausência de displasia.	S
ID 33	dnd	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial com ausência de displasia.	S
ID 34	dnd	Dnd	Bnr	-
ID 35	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 36	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 37	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 38	dnd	Leucoplasia	Acantose e hiperkeratose epitelial com ausência de displasia.	N
ID 39	dnd	CEC	CEC	S
ID 40	dnd	Reação Liquefocítica	Mucosite crônica de interface compatível com Líquen Plano Bucal.	S
ID 41	dnd	Reação Liquefocítica	Mucosite crônica de interface compatível com Líquen Plano Bucal.	S
ID 42	dnd		bnr	
ID 43	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 44	dnd		bnr	-
ID 45	dnd		bnr	-
ID 46	dnd		bnr	-
ID 47	dnd		bnr	-
ID 48	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 49	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S
ID 50	dnd	Líquen Plano	Líquen Plano	S

Legenda:

Local da lesão

RAD: rebordo alveolar direito

ERA: rebordo alveolar esquerdo

RAA: rebordo alveolar anterior

BLD: bordo de língua lado direito

BLE: borda de língua lado esquerdo

VL: ventre de língua

DL: dorso de língua

MJE: mucosa jugal, lado esquerdo

MJD: mucosa jugal, lado direito

AB: assoalho bucal

LI: lábio inferior

LS: lábio superior

PD: palato duro

PM: palato mole

GILI: Gengiva inserida por lingual inferior

GILS: Gengiva inserida por lingual superior

GIVI: Gengiva inserida por vestibular inferior

GIVS: Gengiva inserida por vestibular superior

dnd: Dado não disponível

Diagnóstico clínico

CEC: Carcinoma de Células Escamosas ou Carcinoma Espinocelular

Diagnóstico histopatológico

bnr: Biópsia não realizada

Correspondência clínico X histopatológico

S: Sim

N: Não

APÊNDICE B – FICHA CLÍNICA DO PACIENTE

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - DEPARTAMENTO DE
PATOLOGIA
AMBULATÓRIO DE ESTOMATOLOGIA DO HU/UFSC**

1. Dados de Identificação do Paciente:

Nome: _____ Idade: ____ Data de nascimento: ____ / ____ / ____

Gênero: () Fem; () Masc Etnia: _____

Ocupação: _____

Estado civil: () Solteiro; () Casado; () Viúvo;

() Separado/Divorciado

Naturalidade: _____

Nacionalidade: () Brasileiro; () Espanhol;

() Outros: _____

Endereço completo:

Telefone(s) para contato: _____

Falar com _____

E-mail: _____

2. Dados de Anamnese:

Queixa atual (utilizar as palavras do paciente):

Duração do problema atual (dias/meses ou anos):

Tratamento prévio para o problema atual (medicamentos utilizados, cirurgias anteriores, etc.)

Quem encaminhou para este serviço?

Fone _____

Problemas de saúde prévios:

- Cirurgias/ hospitalizações

anteriores: _____

- Problemas

alérgicos: _____

- Problemas respiratórios:

- Problemas cardíacos:

- Problemas renais:

- Problemas sanguíneos:

- Outros: _____

Medicamentos atualmente em uso (Nome/ Dose/ Indicação):

- _____

- _____

- _____

- _____

- _____

- _____

Antecedentes familiares (diabetes, hipertensão, problemas cardíacos, câncer, síndromes e outros):

Hábitos:

- Fumo: () Não; () Sim: _____ cigarros/dia, há _____ meses /anos

- Bebidas alcoólicas: () Não; () Sim, há _____ anos.
Tipo de bebida: _____
Frequência: () todos os dias; () finais de semana; () outros: _____
- Uso de drogas: () Não; () Sim: tipo: _____, há _____ meses/anos

3. Exame Clínico:

Localização da lesão:

- () Palato duro
- () Região parotídea D / E
- () Dorso de língua D / E / linha média: terços anterior, médio ou posterior
- () Comissura labial D / E
- () Mucosa jugal D / E: terços anterior / médio ou posterior
- () Região peribucal
- () Gengiva - região de _____
- () Palato mole e pilar amigdaliano D / E
- () Fundo de sulco – região de _____
- () Bordo de língua D / E: terços anterior / médio / posterior
- () Outros locais: _____

Tamanho: _____

Cor: _____

Forma: _____

Inserção: _____

Consistência: _____

Mobilidade: _____

Fator etiológico: _____

Sinais secundários: _____

Outras lesões / alterações: _____

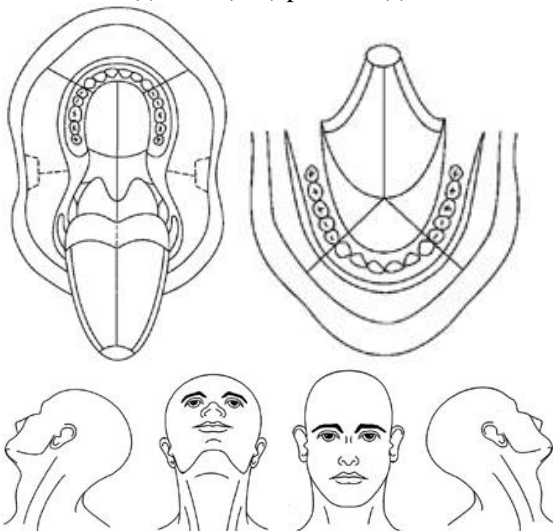
Comprometimento das cadeias ganglionares da região de cabeça e pescoço?

- () Sim: bilateral/ unilateral, lado direito/ unilateral, lado esquerdo
- () Não

Tipo de linfonadenopatia:

- () Inflamatória
- () neoplasica maligna
- () reacional
- () Outras: _____

Desenho da(s) lesão(ões) presente(s):



4. Tratamento recomendado:

- () Tratamento clínico com medicamentos:

- () Cirúrgico:

5. Resultados do laudo histopatológico (ou outro):

Diagnóstico clínico: _____
Diagnóstico Anatomopatológico: _____

APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - DEPARTAMENTO DE
PATOLOGIA
AMBULATÓRIO DE ESTOMATOLOGIA DO HU/UFSC**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado Paciente, Pai / Mãe / Responsável Legal,

As informações contidas neste termo foram fornecidas pela acadêmica de Odontologia Mariáh Luz Lisboa e pelas cirurgiãs-dentistas **Alessandra Dutra Silva** e/ou **Carolina Barcellos Silva**, voluntárias do Ambulatório de Estomatologia do HU/UFSC, sob orientação da **Professora Dra Liliane Janete Grando** (Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSC).

O objetivo desse documento é fornecer informações sobre a pesquisa a ser realizada, visando firmar uma autorização por escrito, para a sua participação ou a de seu filho ou tutelado, de maneira a tornar esta participação espontânea, sem qualquer coação.

O título deste trabalho é ***“USO DO TÉCNICA DO AZUL DE TOLUIDINA SEGUIDO DA QUIMIOLUMINISCÊNCIA, COMO MÉTODO AUXILIAR DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LESÕES BUCAIS CANCERIZÁVEIS”***.

O objetivo principal deste estudo é avaliar se uma técnica chamada de **Quimioluminiscência** (uma espécie de luz artificial sob a forma de um pequeno bastão ou lápiz), aplicada após o uso de um corante azul (uma espécie de tinta chamada de **Azul de Toluidina**), pode ajudar a descobrir se a lesão que está na sua boca tem chances ou não de se transformar num **Câncer de Boca**. O Câncer de Boca é uma doença muito grave, que pode matar o paciente se não for tratada precocemente. Além disso, o tratamento do Câncer de Boca é difícil e causa muitas consequências para o

paciente, tais como defeitos no rosto. Ele ocorre principalmente em pacientes que fumam muito e há muitos anos e que tem o hábito de consumir bebidas alcoólicas frequentemente. Infelizmente é uma doença que começa na boca como uma ferida que não cicatriza em mais de 15 dias, mesmo que o tratamento correto tenha sido realizado. A grande maioria dos cânceres de boca começa com uma lesão de aparência inocente (lesão cancerizável) que, se reconhecida e tratada precocemente, pode impedir o desenvolvimento do Câncer de Boca. Por isso a importância do diagnóstico precoce destas lesões: o tratamento correto destas lesões pode salvar a vida do paciente!

Caso o(a) Sr.(a), seu filho ou tutelado, concordarem em participar desta pesquisa, será examinado clinicamente, submetido aos exames que forem necessárias e a remoção da lesão. O material removido será posteriormente analisado e o(a) Sr (a) será informado do resultado. Estes procedimentos não causam prejuízos e são utilizados rotineiramente em outros serviços de diagnóstico. A sua participação nesta pesquisa não lhe trará nenhum custo e nem será remunerada. Ressaltamos que este material não será usado para pesquisa genética. Os dados obtidos do exame serão arquivados sob a supervisão da pesquisadora principal e a mesma se responsabiliza pela confidencialidade das informações.

O(a) Sr.(a), seu filho ou tutelado, terá sua lesão diagnosticada, tratada pela equipe do Ambulatório de Estomatologia do HU/UFSC, e analisada no Laboratório de Patologia Bucal do Curso de Odontologia da UFSC. Serão esclarecidas todas as suas dúvidas sobre assuntos relacionados com a pesquisa, sobre o diagnóstico da lesão e seu tratamento.

Você terá como nos localizar no Ambulatório de Estomatologia do HU/ UFSC (terças-feiras, ala C do Hospital Universitário/UFSC) ou através dos telefones (48) 9136-6762 (Mariáh Luz Lisboa), (48)3721-5068 (Sala da Disciplina de Patologia Bucal/CCS/UFSC) ou (48) 9971-6864 (com Professora Liliane J Grando). A pesquisadora assume o compromisso de proporcionar informações atualizadas obtidas durante o estudo.

O Sr.(a) tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento, deixando de participar do estudo, sem qualquer represália

ou prejuízo. O tratamento, portanto será realizado, independentemente da sua participação nesta pesquisa. Caso o senhor(a) deseje abandonar a pesquisa, isso poderá ocorrer a qualquer momento, apenas manifestando sua vontade pelo telefone (48) 9137-6762 (com Mariáh Luz Lisboa), (48) 3721-5068/ 9971-6864 (com Professora Liliane J Grando) .

Eu,

Pai / mãe / responsável pelo menor _____, concordo e autorizo a participação no estudo ***“USO DA TÉCNICA DO AZUL DE TOLUIDINA SEGUIDO DO USO DA QUIMIOLUMINISCÊNCIA, COMO MÉTODO AUXILIAR NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LESÕES BUCAIS CANCERIZÁVEIS”***, que será executado pela acadêmica de Odontologia Mariáh Luz Lisboa e pelas cirurgiãs-dentistas **Alessandra Dutra Silva** e/ou **Carolina Barcellos Silva**, sob orientação da Professora Dra. Liliane Janete Grando, bem como a utilização dos dados coletados, desde que seja mantido o sigilo de minha identificação, conforme normas do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos desta Universidade. Outrossim, também autorizo a utilização das fotografias, radiografia e dos dados obtidos a partir delas, sem identificação, para utilização como material didático para aulas expositivas, apresentação em eventos científicos ou para publicação de trabalhos em revistas e eventos científicos da área da saúde, nacional e/ou internacional.

Florianópolis, ____ de _____ de 20__.

Assinatura do Paciente/Responsável Legal RG:

Acadêmica Mariáh Luz Lisboa

*Assinatura das CDs Alessandra Dutra Silva e/ou Carolina
Barcellos Silva*

*Assinatura da Pesquisadora Responsável (Profa Dra Liliane
Janete Grando)
RG: 12R.699.919 SSP-SC*

Anexos

ANEXO A – Certificado de aprovação de projeto de pesquisa emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

CERTIFICADO Nº 735

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N. 70384/GR-99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o contido no Regimento Interno do CEPSH, CERTIFICA que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP.

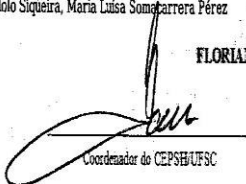
APROVADO

PROCESSO: 735 FR: 330915

TÍTULO: USO DA TÉCNICA DO AZUL DE TOLUIDINA SEGUIDO DO USO DA QUIMIOLUMINISCÊNCIA, COMO MÉTODO AUXILIAR NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LESÕES BUCAIS CANCERIZÁVEIS

AUTOR: LILIANE JANETE GRANDO, Sônia Maria Luckmann Fabro, Maria Inês Meurer, Filipe Ivan Daniel, Elena Riet Correa Rivero, Filipe Modolo Siqueira, Maria Luísa Somatarrera Pérez

FLORIANÓPOLIS, 31 de Maio de 2010.


Coordenador do CEPSH/UFSC

ANEXO B – Normas utilizadas na formatação do artigo.

Guide for Authors – European Journal of Cancer Prevention.

The official publication for the European Journal of Cancer Prevention.

Title Page. The Title Page should carry the full title of the paper and a short title, of no more than 45 characters and spaces, to be used as a ‘running head’ (and which should be so identified). The first name, middle initial and last name of each author should appear. If the work is to be attributed to a department or institution, its full name should be included. Any disclaimers should appear on the Title Page, as should the name and address of the author responsible for correspondence concerning the manuscript and the name and address of the author to whom requests for reprints should be made. Finally, the Title Page should include a statement of conflicts of interest and source of funding, and when none state “none declared”.

Abstracts. The second page should carry a structured abstract of no more than 250 words. The abstract should state the Objective(s) of the study or investigation, basic Methods (selection of study subjects or laboratory animals; observational and analytical methods), main Results (giving specific data and their statistical significance, if possible), and the principal Conclusions. It should emphasize new and important aspects of the study or observations.

Key Words. The abstract should be followed by a list of 3–10 keywords or short phrases which will assist the cross-indexing of the article and which may be published. When possible, the terms used should be from the Medical Subject Headings list of the National Library of Medicine (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>).

Text. Full papers of an experimental or observational nature may be divided into sections headed Introduction, Methods (including ethical and statistical information), Results and Discussion (including a conclusion), although reviews may require a different format.

Acknowledgements. Acknowledgements should be made only to those who have made a substantial contribution to the study. Authors are

responsible for obtaining written permission from people acknowledged by name in case readers infer their endorsement of data and conclusions.

References. References should be numbered consecutively in the order in which they first appear in the text. They should be assigned Arabic numerals, which should be given in brackets, e.g. [17]. References should include the names of all authors when six or fewer; when seven or more, list only the first six names and add et al. References should also include full title and source information. Journal names should be abbreviated as in MEDLINE (NLM Catalog, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>).

Some sample reference styles follow:

Articles in journals

Standard journal article:

Simopoulos AP. The traditional diet of Greece and cancer. *Eur J of Cancer Prev* 2004;**13**:219-230.

More than six authors:

Zhang LR, Chiarelli AM, Glendon G, Mirea L, Edwards S, Knight JA, et al. (2011). Influence of perceived breast cancer risk on screening behaviors of female relatives from the Ontario site of the Breast Cancer Family Registry. *Eur J of Cancer Prev* **20**:255-262.

Supplements

Viguier J. (2011). Cancer screening: more information, more action, more benefits. *Eur J of Cancer Prev* **20** (Suppl 1):S2-S4.

Books

Book:

DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer: principles & practice of oncology*, 7th edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

Chapter in a book:

Restifo NP, Wunderlich JR. (2005). Cancer Immunology. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: principles & practice of oncology*, 7th edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins: pp. 139-161.

Personal communications and unpublished work should not feature in the reference list but should appear in parentheses in the text. Unpublished work accepted for publication but not yet released should be included in the reference list with the words 'in press' in parentheses beside the name of the journal concerned. References must be verified by the author(s) against the original documents.

Tables. Each table should be typed on a separate sheet in double spacing. Tables should not be submitted as photographs. Each table should be assigned an Arabic numeral, e.g. (Table 3) and a brief title. Vertical rules should not be used. Place explanatory matter in footnotes, not in the heading. Explain in footnotes all non-standard abbreviations that are used in each table. Identify statistical measures of variations, such as standard deviation and standard error of the mean.

Be sure that each table is cited in the text. If you use data from another published or unpublished source, obtain permission and acknowledge the source fully.

Illustrations. References to figures and tables should be made in order of appearance in the text and should be in Arabic numerals in parentheses, e.g. (Fig. 2). Most file formats are accepted, but TIFF and EPS files, with fonts embedded, are preferred. If scanned, line art should be at a resolution of 800 dpi, and halftones and colour at 300 dpi. All colour values should be CMYK. If hard copies are submitted they should have a label pasted to the back bearing the figure number, the title of the paper, the author's name and a mark indicating the top of the figure. Illustrations should be presented to a width of 82 mm or, when the illustration demands it, to a width of 166 mm. Photomicrographs must have internal scale markers. If photographs of people are used, their identities must be obscured or the picture must be accompanied by written consent to use the photograph. If a figure has been published before, the original source must be acknowledged and written permission from the copyright holder for both print and electronic formats should be submitted with the material. Permission is required regardless of authorship or publisher, except for documents in the public domain. Figures may be reduced, cropped or deleted at the discretion of the editor. Colour illustrations are acceptable but authors will be expected to cover the extra reproduction costs (for current charges, contact the publisher).

Legends for illustrations. Captions should be typed in double spacing, beginning on a separate sheet of paper. Each one should have an Arabic numeral corresponding to the illustration to which it refers. Internal scales should be explained and staining methods for photomicrographs should be identified.

Units of measurement. Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units (metre, kilogram, or litre) or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius. Blood pressures should be given in millimetres of mercury. All haematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Editors may request that alternative or non-SI units be added by the authors before publication.

Abbreviations and symbols. Use only standard abbreviations. Avoid abbreviations in the title and abstract. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.

Offprints. Offprints may be purchased using the appropriate form that will be made available with proofs. Orders should be sent when the proofs are returned; orders received after this time cannot be fulfilled.

